



(74) Mandataire: BOUVET, Philippe; Aventis Pharma S.A.,
Direction Brevets, 20, avenue Raymond Aron, F-92165
Antony Cedex (FR).

(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(81) États désignés (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ,
PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Publiée:

- Avec rapport de recherche internationale.
- Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.

(84) États désignés (*régional*): brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) Abrégé: La présente invention concerne des acides nucléiques correspondant aux différents exons et introns du gène ABC1, dont il est présentement démontré qu'il est un gène causal de pathologies liées à un dysfonctionnement du métabolisme du cholestérol induisant des maladies comme l'athérosclérose, plus particulièrement des perturbations du transport inverse du cholestérol, et plus particulièrement des déficiences familiales en HDL (FHD), comme la maladie de Tangier.

ACIDES NUCLEIQUES ET PROTEINES CORRESPONDANT AU GENE ABC1 HUMAIN

La présente invention concerne des acides nucléiques correspondant aux différents exons et introns du gène ABC1, dont il est présentement démontré qu'il est un gène causal de pathologies liées à un dysfonctionnement du métabolisme du cholestérol induisant des maladies comme l'athérosclérose, plus particulièrement des perturbations du transport inverse du cholestérol, et plus particulièrement des déficiences familiales en HDL (FHD), comme la maladie de Tangier. L'invention concerne également des moyens de détection de polymorphismes en général, et de mutations en particulier, dans le gène ABC1 ou dans la protéine correspondante produite par la forme allélique du gène ABC1. L'invention fournit également des compositions pharmaceutiques comprenant un acide nucléique contenant la région codante du gène ABC1 et des compositions pharmaceutiques contenant la protéine ABC1 destinées au traitement de maladies liées à un déficit dans le transport inverse du cholestérol, telle que la maladie de Tangier. L'invention fournit également des méthodes de criblages de petites molécules agissant sur la protéine ABC1 qui peuvent par elle même constituer des produit agissant sur le transport inverse du cholestérol et en tant que telles, peuvent permettre de lutter efficacement contre l'athérosclérose du point de vue thérapeutique.

Les lipoprotéines de haute densité (HDL) sont l'une des quatre classes majeures de lipoprotéines qui circulent dans le plasma sanguin.

Ces lipoprotéines sont impliquées dans différentes voies métaboliques telles que le transport lipidique, la formation des acides biliaires, la stéroïdogénèse, la prolifération cellulaire et en outre interfèrent avec les systèmes de protéinase plasmatique.

Les HDL sont de parfaits accepteurs de cholestérol libre et, en combinaison avec les protéines de transfert d'ester de cholestérol (CETP), la lipoprotéine lipase (LPL), la lipase hépatique (HL) et la lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT), jouent un rôle majeur dans le transport inverse du cholestérol, c'est à dire le transport du cholestérol en excès dans les cellules périphériques vers le foie pour son élimination de l'organisme sous forme d'acide biliaire.

Il a été démontré que les HDL jouent un rôle central dans le transport du cholestérol des tissus périphériques vers le foie.

Diverses maladies liées à une déficience en HDL ont été décrites, comprenant la maladie de Tangier, la déficience en HDL et la déficience en LCAT.

La déficience impliquée dans la maladie de Tangier est reliée à un déficit cellulaire dans la translocation du cholestérol cellulaire qui entraînent une dégradation des HDLs. Néanmoins, pour la maladie de Tangier, la nature exacte du déficit n'a pas encore été précisément définie.

Dans la maladie de Tangier, ce déficit cellulaire conduit à une perturbation du métabolisme lipoprotéique. Les particules HDL n'incorporant pas de cholestérol à partir des cellules périphériques et ne pouvant pas être métabolisées correctement, sont éliminées rapidement de l'organisme. La concentration plasmatique en HDL de ces patients est donc extrêmement réduite et les HDL n'assurent plus le retour du cholestérol vers le foie. Ce cholestérol s'accumule dans ces cellules périphériques et provoquent des manifestations cliniques caractéristiques telles que la formation d'amygdales orangées. De plus, d'autres perturbations lipoprotéiques comme une surproduction de triglycérides ainsi qu'une synthèse et un catabolisme intracellulaire accrus des phospholipides sont observées.

La maladie de Tangier, dont les symptômes ont été décrits ci-dessus, est classée parmi les affections familiales liées au métabolisme des HDL qui sont les plus couramment détectées chez les patients affectés de maladies coronariennes.

De nombreuses études ont montré qu'un niveau réduit de cholestérol HDL est un excellent facteur de risque permettant de dépister une affection coronarienne.

Dans ce contexte, des syndromes liés aux déficiences en HDL ont présenté un intérêt accru durant la décennie passée du fait qu'elles permettent d'accroître la compréhension du rôle des HDL dans l'athérogénèse.

Plusieurs mutations dans le gène apo A-I ont été caractérisées. Ces mutations sont rares et peuvent conduire à une absence de production d'apo A-I.

Des mutations dans les gènes codant pour la lipoprotéine lipase (LPL) ou son activateur apoC-II sont associées à des hypertriglycéridémies sévères et des niveaux de HDL-c fortement réduits.

Des mutations dans le gène codant pour l'enzyme lécithine: cholestérol, acyltransférase (LCAT) sont également associées à une déficience sévère en HDL.

De plus, des dysfonctionnements dans le transport inverse du cholestérol pourraient être induits par des déficits physiologiques affectant une ou plusieurs des étapes de transport du cholestérol stocké, des vésicules intracellulaires vers la surface membranaire au niveau de laquelle celui-ci est pris en charge par les HDL.

Il existe donc un besoin croissant dans l'état de la technique d'identifier des gènes impliqués dans l'une quelconque des étapes du métabolisme du cholestérol et/ou des lipoprotéines, et en particulier de gènes associés à des dysfonctionnements du transport inverse du cholestérol des cellules périphériques vers le foie.

Récemment, une étude de la ségrégation de différentes formes alléliques de 343 marqueurs microsatellites répartis sur l'ensemble du génome et distants entre eux en moyenne de 10,3 cM a été réalisée.

L'étude de liaison (linkage) a porté sur une famille bien caractérisée sur onze générations, dont de nombreux membres sont affectés par la maladie de Tangier; la famille comportant cinq lignées de consanguinité.

Cette étude a permis d'identifier une région localisée dans le locus 9q31 du chromosome 9 humain statistiquement associé à l'affection (Rust S. et al., Nature Genetics, vol. 20, Septembre 1998, pages 96-98).

Toutefois, l'étude de RUST et al. définit seulement une large région du génome dont des altérations sont susceptibles d'être associées à la maladie de Tangier. Il est simplement précisé que la région 9q31-34 concernée contient des ESTs mais aucun gène connu.

Il a désormais été montré selon l'invention qu'une région d'environ 1cM située dans le locus 9q31 chez l'homme était associée, de manière générale, à des déficiences familiales en HDL.

De manière plus précise, il a été montré qu'un gène codant pour une protéine de la famille des transporteurs ABC, localisé précisément dans la région de 1 cM du locus 9q31, était impliqué dans des pathologies liées à un déficit dans le transport inverse du cholestérol.

Plus particulièrement, il a été montré selon l'invention que le gène codant pour le transporteur ABC-1 était muté chez des patients affectés dans le transport inverse du cholestérol, et tout particulièrement chez des patients atteints de la maladie de Tangier.

5 Les protéines transporteurs ABC ("ATP-binding cassette") constituent une famille de protéines qui sont extrêmement conservées au cours de l'évolution, de la bactérie à l'homme.

Les protéines transporteurs ABC sont impliqués dans le transport membranaire de divers substrats, par exemple des ions, des acides aminés,
10 des peptides, des sucres, des vitamines ou encore des hormones stéroïdes.

La caractérisation de la séquence complète en acides aminés de certains transporteurs ABC a permis de déterminer que ces protéines avaient une structure générale commune, notamment deux repliements de liaison aux nucléotides (Nucleotide Binding Fold ou NBF) avec des motifs de
15 type Walker A et B ainsi que deux domaines transmembranaires, chacun des domaines transmembranaires étant constitué de six hélices. La spécificité des transporteurs ABC pour les différentes molécules transportées apparaît être déterminée par la structure des domaines transmembranaires, alors que l'énergie nécessaire à l'activité de transport
20 est fournie par la dégradation de l'ATP au niveau du repliement NBF.

Plusieurs des protéines transporteurs ABC qui ont été identifiées chez l'homme, ont été associées à diverses maladies.

Par exemple, la mucoviscidose est provoquée par des mutations dans le gène CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator).

25 Par ailleurs, certains phénotypes de résistance multiple aux médicaments dans les cellules tumorales ont été associés à des mutations dans le gène codant la protéine MDR (multi-drug resistance), qui a également une structure de transporteur ABC.

D'autres transporteurs ABC ont été associés à des affections
30 neuronales et tumorales (brevet US n°5,858,719) ou encore potentiellement impliqués dans des maladies provoquées par une altération de l'homéostasie des métaux, telle que la protéine ABC-3.

De même, un autre ABC transporteur, désigné PFIC2, semble impliquer dans une forme de cholestasie intra hépatique familiale

progressive, cette protéine étant potentiellement responsable, chez l'homme, de l'exportation des sels biliaires.

En 1994, un ADNc codant pour un nouveau transporteur ABC de souris a été identifié et désigné ABC1 (Luciani et al., 1994). Cette protéine
5 est caractéristique des transporteurs ABC en ce qu'elle comporte une structure symétrique comprenant deux domaines transmembranaires liés à un segment hautement hydrophobe et à deux motifs NBF.

Chez l'homme, un ADNc partiel comprenant la totalité de la phase de lecture ouverte du transporteur ABC1 humain a été identifié (Langmann et
10 al., 1999).

Il a également été montré que le gène codant pour la protéine ABC1 humaine est exprimé dans divers tissus, et plus particulièrement à des niveaux élevés dans le placenta, le foie, le poumon, les glandes surrénales ainsi que les tissus fœtaux.

15 Ces auteurs ont également montré que l'expression du gène codant pour la protéine ABC1 humaine était induite pendant la différenciation des monocytes en macrophages *in vitro*. De plus, l'expression du gène codant pour la protéine ABC1 est augmentée lorsque les macrophages humains sont incubés en présence de lipoprotéines de faible densité acétylées
20 (AcLDLs).

Toutefois, le rôle exact de la protéine ABC1 humaine dans le système de transport des lipides est totalement inconnu. Il est simplement supposé que la protéine ABC1 possède une activité de translocase des phospholipides.

25 Il a désormais été montré selon l'invention que des patients atteints de la maladie de Tangier comportaient un gène ABC1 muté. Plusieurs mutations distribuées dans différents exons du gène ABC1 ont été identifiées dans le génome de différents malades, en particulier de malades affectés d'une forme sévère de la maladie associée à des désordres
30 coronariens. Par ailleurs, divers polymorphismes ont été trouvés à la fois dans les exons et dans les introns du gène ABC1 chez des patients atteints de formes plus légères de la maladie, indiquant que ces patients portent des allèles particuliers du gène, distinct du ou des allèles "sauvages". De tels allèles, en partie caractérisables par ces polymorphismes, sont par ailleurs
35 susceptibles de contenir des substitutions, additions ou délétions de

nucléotides dans des régions non codantes localisées respectivement du côté 5' du premier exon ou encore du côté 3' du dernier exon du gène, en particulier dans des régions régulatrices, par exemple dans des séquences promotrices ou encore dans des séquences activatrices (en anglais "enhancer"), de nature à induire des défauts-augmentation ou diminution-
5 dans la synthèse du polypeptide ABC1.

Il a ainsi été identifié une première mutation particulière chez un patient atteint de la maladie de Tangier, dans le gène ABC-1, qui est localisée dans l'exon 13, et qui consiste en une substitution d'un nucléotide
10 provoquant l'introduction d'un codon d'arrêt de traduction précoce dans la phase ouverte de lecture, conduisant à la synthèse d'un polypeptide tronqué comprenant environ d'un quart de la séquence d'acides aminés du polypeptide synthétisé chez les patients non affectés par la maladie de Tangier.

15 Une seconde mutation particulière dans le gène ABC1 a été trouvée, qui consiste en une insertion d'un fragment de 100 nucléotides dans l'exon 12, conduisant à la synthèse d'un polypeptide anormal en ce qu'il contient une délétion de 6 résidus et une insertion de 38 amino-acides, ce en position 468 de la séquence de la protéine.

20 Il a en outre été confirmé selon l'invention que le gène ABC1 était régulé positivement par les lipoprotéines de faible densité acétylées (AcLDLs).

DEFINITIONS GENERALES

25

Le terme "isolé" au sens de la présente invention désigne un matériel biologique (acide nucléique ou protéine) qui a été soustrait à son environnement originel (l'environnement dans lequel il est localisé naturellement).

30 Par exemple un polynucléotide présent à l'état naturel dans une plante ou un animal n'est pas isolé. Le même polynucléotide séparé des acides nucléiques adjacents au sein desquels il est naturellement inséré dans le génome de la plante ou l'animal est considéré comme "isolé".

Un tel polynucléotide peut être inclus dans un vecteur et/ou un tel
35 polynucléotide peut être inclus dans une composition et demeurer

néanmoins à l'état isolé du fait que le vecteur ou la composition ne constitue pas son environnement naturel.

Le terme "purifié" ne nécessite pas que le matériel soit présent sous une forme de pureté absolue, exclusive de la présence d'autres composés. Il s'agit plutôt d'une définition relative.

Un polynucléotide est à l'état "purifié" après purification du matériel de départ ou du matériel naturel d'au moins un ordre de grandeur, de préférence 2 ou 3 et préférentiellement 4 ou 5 ordres de grandeur.

Aux fins de la présente description, l'expression "séquence nucléotidique" peut être employée pour désigner indifféremment un polynucléotide ou un acide nucléique. L'expression "séquence nucléotidique" englobe le matériel de génétique lui-même et n'est donc pas restreinte à l'information concernant sa séquence.

Les termes "acide nucléique", "polynucléotide", "oligonucléotide" ou encore "séquence nucléotidique" englobent des séquences d'ARN, d'ADN, d'ADNc ou encore des séquences hybrides ARN/ADN de plus d'un nucléotide, indifféremment sous la forme simple chaîne ou sous la forme de duplex.

Le terme "nucléotide" désigne à la fois les nucléotides naturels (A, T, G, C) ainsi que des nucléotides modifiés qui comprennent au moins une modification telle que (1) un analogue d'une purine, (2) un analogue d'une pyrimidine, ou (3) un sucre analogue, des exemples de tels nucléotides modifiés étant décrits par exemple dans la demande PCT N°WO 95/04 064.

Aux fins de la présente invention, un premier polynucléotide est considéré comme étant "complémentaire" d'un second polynucléotide lorsque chaque base du premier nucléotide est appariée à la base complémentaire du second polynucléotide dont l'orientation est inversée. Les bases complémentaires sont A et T (ou A et U), ou C et G.

Par "variant" d'un acide nucléique selon l'invention, on entendra un acide nucléique qui diffère d'une ou plusieurs bases par rapport au polynucléotide de référence. Un acide nucléique variant peut être d'origine naturel, tel qu'un variant allélique retrouvé naturellement, ou peut être aussi un variant non naturel obtenu par exemple par des techniques de mutagenèse.

En général, les différences entre l'acide nucléique de référence et l'acide nucléique variant sont réduites de telle sorte que les séquences nucléotidiques de l'acide nucléique de référence et de l'acide nucléique variant sont très proches et, dans de nombreuses régions, identiques. Les modifications de nucléotides présentes dans un acide nucléique variant peuvent être silencieuses, ce qui signifie qu'elles n'altèrent pas les séquences d'acides aminés codées par ledit acide nucléique variant.

Cependant, les changements de nucléotides dans un acide nucléique variant peuvent aussi résulter dans des substitutions, additions, délétions dans le polypeptide codé par l'acide nucléique variant par rapport aux peptides codés par l'acide nucléique de référence. En outre, des modifications de nucléotides dans les régions codantes peuvent produire des substitutions, conservatives ou non conservatives dans la séquence d'acides aminés.

De préférence, les acides nucléiques variants selon l'invention codent pour des polypeptides qui conservent sensiblement la même fonction ou activité biologique que le polypeptide de l'acide nucléique de référence ou encore la capacité à être reconnus par des anticorps dirigés contre les polypeptides codés par l'acide nucléique initial.

Certains acides nucléiques variants coderont ainsi pour des formes mutées des polypeptides dont l'étude systématique permettra de déduire des relations structure activité des protéines en question. La connaissance de ces variants par rapport à la maladie étudiée est fondamentale puisqu'elle permet de comprendre la cause moléculaire de la pathologie.

On entendra par "fragment" un acide nucléique de référence selon l'invention, une séquence nucléotidique de longueur réduite par rapport à l'acide nucléique de référence et comprenant, sur la partie commune, une séquence en nucléotides identique à l'acide nucléique de référence.

Un tel "fragment" d'acide nucléique selon l'invention peut être le cas échéant, compris dans un polynucléotide plus grand duquel il est constitutif.

De tels fragments comprennent, ou alternativement consistent en, des oligonucléotides de longueur allant de 8, 10, 12, 15, 18, 20 à 25, 30, 40, 50, 70, 80, 100, 200, 500, 1000 ou 1500 nucléotides consécutifs d'un acide nucléique selon l'invention.

Par "variant" d'un polypeptide selon l'invention, on entendra principalement un polypeptide dont la séquence d'acides aminés contient une ou plusieurs substitutions, additions ou délétions d'au moins un résidu d'acide aminé, par rapport à la séquence d'acides aminés du polypeptide de référence, étant entendu que les substitutions d'acides aminés peuvent être indifféremment conservatives ou non conservatives.

Par "fragment" d'un polypeptide selon l'invention, on entendra un polypeptide dont la séquence d'acides aminés est plus courte que celle du polypeptide de référence et qui comprend sur toute la partie commune avec ces polypeptides de référence, une séquence en acides aminés identique.

De tels fragments peuvent, le cas échéant, être compris au sein d'un polypeptide plus grand duquel ils font partie.

De tels fragments d'un polypeptide selon l'invention peuvent avoir une longueur de 10, 15, 20, 30 à 40, 50, 100, 200 ou 300 acides aminés.

Le "pourcentage d'identité" entre deux séquences de nucléotides ou d'acides aminés, au sens de la présente invention, peut être déterminé en comparant deux séquences alignées de manière optimale, à travers une fenêtre de comparaison.

La partie de la séquence nucléotidique ou polypeptidique dans la fenêtre de comparaison peut ainsi comprendre des additions ou des délétions (par exemple des "gaps") par rapport à la séquence de référence (qui ne comprend pas ces additions ou ces délétions) de manière à obtenir un alignement optimal des deux séquences.

Le pourcentage est calculé en déterminant le nombre de positions auquel une base nucléique ou un résidu d'acide aminé identique est observé pour les deux séquences (nucléique ou peptidique) comparées, puis en divisant le nombre de positions auquel il y a identité entre les deux bases ou résidus d'acides aminés par le nombre total de positions dans la fenêtre de comparaison, puis en multipliant le résultat par 100 afin d'obtenir le pourcentage d'identité de séquence.

L'alignement optimal des séquences pour la comparaison peut être réalisé de manière informatique à l'aide d'algorithmes connus contenus dans le package de la Société WISCONSIN GENETICS SOFTWARE PACKAGE, GENETICS COMPUTER GROUP (GCG), 575 Science Doctor, Madison, WISCONSIN.

À titre d'illustration, le pourcentage d'identité de séquence pourra être effectué à l'aide du logiciel BLAST (versions BLAST 1.4.9 de mars 1996, BLAST 2.0.4 de février 1998 et BLAST 2.0.6 de septembre 1998), en utilisant exclusivement les paramètres par défaut (S. F Altschul et al, J. Mol. Biol. 1990 215 : 403-410, S. F Altschul et al, Nucleic Acids Res. 1997 25 : 3389-3402). Blast recherche des séquences similaires/homologues à une séquence " requête " de référence, à l'aide de l'algorithme d'Altschul et al. La séquence requête et les bases de données utilisées peuvent être peptidiques ou nucléiques, toute combinaison étant possible.

10

Par " conditions d'hybridation de forte stringence " au sens de la présente invention, on entendra les conditions suivantes :

1- Compétition des membranes et PRE HYBRIDATION :

15

- Mélanger : 40µl ADN sperme de saumon (10mg/ml)
+ 40 µl ADN placentaire humain (10mg/ml)

- Dénaturer 5 mn à 96°C, puis plonger dans la glace le mélange.

20

- Oter le SSC 2X et verser 4 ml de mix formamide dans le tube d'hybridation contenant les membranes.

- Ajouter le mélange des deux ADNs dénaturés.

25

- Incubation à 42°C pendant 5 à 6 heures, avec rotation.

2- Compétition de la sonde marquée :

30 - Ajouter à la sonde marquée et purifiée 10 à 50 µl ADN Cot I, selon la quantité de repeats.

- Dénaturer 7 à 10 mn à 95°C.

35 - Incuber à 65°C pendant 2 à 5 heures.

3- HYBRIDATION :

- Oter le mix de pré hybridation.

5

- Mélanger 40 µl ADN sperme de saumon + 40 µl ADN placentaire humain ;
dénaturer 5 mn à 96°C, puis plonger dans la glace.

10 - Ajouter dans le tube d'hybridation 4 ml de mix formamide, le mélange des
deux ADN et la sonde marquée/ADN Cot I dénaturée.

- Incuber 15 à 20 heures à 42°C, avec rotation.

4- Lavages :

15

- Un lavage à température ambiante dans du SSC 2X, pour rincer.

- 2 fois 5 minutes à température ambiante SSC 2X et SDS 0,1% à 65°C.

- 2 fois 15 minutes à 65°C SSC 1X et SDS 0,1% à 65°C.

20 Envelopper les membranes dans du Saran et exposer.

25 Les conditions d'hybridation décrites plus haut sont adaptées à
l'hybridation dans des conditions de forte stringence, d'une molécule d'acide
nucléique d'une longueur variable de 20 nucléotides à plusieurs centaines
de nucléotides.

30 Il va sans dire que les conditions d'hybridation ci-dessus décrites
peuvent être adaptées en fonction de la longueur de l'acide nucléique dont
l'hybridation est recherchée ou du type de marquage choisi, selon des
techniques connues de l'homme du métier.

Les conditions convenables d'hybridation peuvent par exemple être
adaptées selon l'enseignement contenu dans l'ouvrage de HAMES et
HIGGINS (1985) ou encore dans l'ouvrage de F.AUSUBEL et al (1999).

ACIDES NUCLEIQUES DU GENE ABC1**SEQUENCES GENOMIQUES**

Le gène ABC1 humain comprendrait 48 exons et 47 introns, si l'on se réfère notamment à la structure du gène ABC1 orthologue chez la souris:

- 5 Plusieurs séquences nucléotidiques génomiques partielles du gène ABC1 ont été isolées et caractérisées. Selon l'invention, ces séquences génomiques comprenant à la fois des séquences exoniques et des séquences introniques nouvelles, qui peuvent être utilisées notamment pour la réalisation de différents moyens de détection du gène ABC1 ou de ses
- 10 produits d'expression nucléotidiques dans un échantillon. Ces séquences génomiques partielles sont représentées dans le tableau 1 ci-après.

Tableau I**Séquences génomiques partielles du gène ABC1 humain**

SEQ ID NO	Désignation
1	Intron 10(p), exon 11(p)
2	Intron 11(p), exon 12, intron 12, exon 13, intron 13, exon 14, intron 14, exon 15, intron 15, exon 16, intron 16, exon 17(p)
3	Exon 17(p), intron 17(p)
4	Intron 18(p), exon 19, intron 19(p)
5	Intron 19(p), exon 20, intron 20, exon 21, intron 21, exon 22, intron 22, exon 23, intron 23, exon 24, intron 24, exon 25, intron 25, exon 26, intron 26(p)
6	Intron 26(p), exon 27, intron 27, exon 28, intron 28, exon 29, intron 29, exon 30, intron 30(p)
7	Intron 30(p), exon 31, intron 31, exon 32, intron 32, exon 33, intron 33, exon 34, intron 34(p)
8	Intron 34(p), exon 35, intron 35(p)
9	Intron 35(p), exon 36, intron 36(p)

10	Intron 36(p), exon 37, intron 37, exon 38, intron 38(p)
11	Intron 39(p), exon 40, intron 40, exon 41, intron 41(p)
12	Intron 41(p), exon 42, intron 42(p)
13	Intron 46(p), exon 47, intron 47(p)
14	Dernier exon(p), Séquence en 3' du dernier exon

Ainsi, un premier objet de l'invention consiste en un acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 1-14, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

L'invention concerne aussi un acide nucléique ayant au moins 80%, avantageusement 90%, de préférence 95% et de manière tout à fait préférée 98% d'identité en nucléotides avec un acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 1-14, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

Trente deux exons du gène ABC1 ont été caractérisés, au moins partiellement, par leur séquence nucléotidique, comme indiqué dans le Tableau II ci-dessous.

Tableau II

Exon N°	SEQ ID NO	Localisé dans SEQ ID NO	Position du nucléotide en 5'	Position du nucléotide en 3'
11 (Ext 5')	15	1	3003	3153
12	16	2	398	603
13	17	2	1124	1300
14	18	2	3087	3309
15	19	2	5055	5276
16	20	2	6337	6541

17 (Ext. 5')	21	2	7646	7660
17 (Ext 3')	22	3	1	105
19	23	4	904	1035
20	24	5	284	426
21	25	5	630	767
22	26	5	1470	1690
23	27	5	2949	3021
24	28	5	4008	4210
25	29	5	5878	5926
26	30	5	6122	6235
27	31	6	561	709
28	32	6	2359	2483
29	33	6	3714	3812
30	34	6	6848	7036
31	35	7	1183	1277
32	36	7	2587	2619
33	37	7	3744	3849
34	38	7	5323	5397
35	39	8	236	405
36	40	9	989	1166
37	41	10	545	660
38	42	10	772	916
40	43	11	435	564
41	44	11	829	949
42	45	12	589	651
47	46	13	377	620
Dernier Exon (Ext 3')	47	14	1	1237

Ainsi, l'invention est également relative à un acide nucléique
comprenant un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des
séquences nucléotidiques SEQ ID NO 15-47 , ou un acide nucléique de
5 séquence complémentaire.

Par ailleurs, trente-cinq introns du gène ABC1 ont été isolés et caractérisés, au moins partiellement. Les séquences nucléotidiques des introns du gène ABC1, ainsi que leurs fragments et leurs variants peuvent aussi être utilisés comme sondes ou amorces nucléotidiques pour détecter la présence d'au moins une copie du gène ABC1 dans un échantillon, ou encore pour amplifier une séquence cible déterminée au sein du gène ABC1.

Les références aux séquences introniques du gène ABC1 sont indiquées dans le Tableau III ci-dessous.

Tableau III

Intron N°	SEQ ID NO	Localisé dans SEQ ID NO	Position du nucléotide en 5'	Position du nucléotide en 3'
10 (Ext 3')	48	1	1	3002
11 (Ext 3')	49	2	1	397
12	50	2	604	1123
13	51	2	1301	3086
14	52	2	3310	5054
15	53	2	5277	6336
16	54	2	6542	7645
17(Ext 3')	55	3	106	1285
18 (Ext 3')	56	4	1	903
19 (Ext 5')	57	4	1036	1521
19 (Ext 3')	58	5	1	283
20	59	5	427	629
21	60	5	768	1469
22	61	5	1691	2948
23	62	5	3022	4007
24	63	5	4211	5877
25	64	5	5927	6121
26 (Ext 5')	65	5	6236	6519
26 (Ext 3')	66	6	1	560

27	67	6	710	2358
28	68	6	2484	3713
29	69	6	3813	6847
30 (Ext 5')	70	6	7037	7378
30 (Ext 3')	71	7	1	1182
31	72	7	1278	2586
32	73	7	2620	3743
33	74	7	3850	5322
34 (Ext 5')	75	7	5398	5689
34 (Ext 3')	76	8	1	235
35 (Ext 5')	77	8	406	645
35 (Ext 3')	78	9	1	988
36 (Ext 5')	79	9	1167	1664
36 (Ext 3')	80	10	1	544
37	81	10	661	771
38 (Ext 5')	82	10	917	1279
39 (Ext 3')	83	11	1	434
40	84	11	565	828
41 (Ext 5')	85	11	950	1124
41 (Ext 3')	86	12	1	588
42 (Ext 5')	87	12	652	729
46 (Ext 3')	88	13	1	376
47 (Ext 5')	89	13	621	731
Séquence distale en 3' du dernier Exon	90	14	1238	3501

L'invention a également trait à un acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 48-89, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

L'invention a en outre pour objet un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides avec un polynucléotide choisi dans le groupe

constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 48-89, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

L'invention est également relative à un acide nucléique hybridant, dans des conditions de forte stringence, avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 48-89, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

En outre, une séquence nucléotidique génomique potentiellement régulatrice localisée en aval de l'extrémité 3' du dernier exon du gène ABC1 a été isolée. Il s'agit du polynucléotide de séquence SEQ ID NO 90. La caractérisation de polymorphismes dans cette séquence potentiellement régulatrice (présence éventuelle de séquences régulatrices de type activatrice ou " enhancer "), en particulier chez des patients affectés de formes légères de déficit dans le transport inverse du cholestérol, en particulier de formes légères de la maladie de Tangier, serait de nature à permettre la réalisation de moyens de détection appropriés, sondes ou amorces, spécifiques de certains de ces polymorphismes susceptibles d'induire des défauts dans la régulation de l'expression du gène ABC1.

Afin d'identifier les fragments polynucléotidiques biologiquement actifs de la séquence SEQ ID NO 90, l'homme du métier pourra avantageusement se référer à l'ouvrage de Sambrook et al. (1989) qui décrit l'utilisation d'un vecteur recombinant portant un gène marqueur (par exemple la β galactosidase, la chloramphenicol acétyl transférase, etc.) dont l'expression peut être détectée lorsque ce gène marqueur est placé sous le contrôle d'un promoteur adapté et d'un fragment biologiquement actif du polynucléotide de séquence SEQ ID NO 90. De tels fragments biologiquement actifs de la séquence SEQ ID NO 90 peuvent être notamment clonés dans des vecteurs de sélection de séquences régulatrices appropriés, tels que l'un des vecteurs pSEAP-Basic, pSEAP-Enhancer, p β gal-Basic, p β gal-Enhancer, ou encore pEGFP-1, commercialisés par la Société Clontech.

L'invention a en outre pour objet un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 90, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

L'invention est également relative à un acide nucléique hybridant, dans des conditions de forte stringence, avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 90, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

5

ADNc COMPLET

Comme déjà indiqué précédemment, une séquence partielle de l'ADNc correspondant à l'expression du gène ABC1 a été identifiée par
10 Langman et al. (1999). Cette séquence partielle de l'ADNc d'ABC1 comprend 6880 nucléotides et contient la totalité de la phase ouverte de lecture correspondant à la protéine ABC1 produite chez les sujets non affectés de troubles liés au transport inverse du cholestérol. La séquence d'ADNc décrite par Langmann et al. (1999) contient en outre une partie de
15 la région 5'-UTR (nucléotides 1 à 120) et une partie de la région 3'-UTR (nucléotides 6727 à 6880).

Il a désormais été isolé et caractérisé selon l'invention la totalité de l'ADNc complet correspondant au gène ABC1, qui comprend une région 3'-UTR nouvelle, qui constitue une région nucléique importante, notamment du
20 point de vue de la stabilité des ARN messagers dans la cellule.

Les analyses d'expression du transcrit de séquence SEQ ID N°91 ont été réalisées par RT-PCR, comme décrit dans l'Exemple 1. Ces analyses effectuées à partir d'ARN polyA+ de différents tissus ont permis de montrer que le gène ABC1 était exprimé dans le cerveau fœtal, le cerveau, le cœur,
25 le placenta et l'utérus.

En conséquence, l'invention concerne aussi un acide nucléique comprenant un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 91 de l'ADNc du gène ABC1 humain, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

L'ADNc du gène ABC1 humain de séquence SEQ ID NO 91
30 comprend une phase de lecture ouverte allant du nucléotide en position 121 (base A du codon d'initiation de la traduction ATG) au nucléotide en position 6723 de la séquence SEQ ID NO 91. Un signal de polyadénylation (de séquence ATTTAA) est présent, débutant au nucléotide en position 9454 de la séquence SEQ ID NO 91.

L'ADNc de séquence SEQ ID NO 91 code pour le polypeptide ABC1 d'une longueur de 2201 acides aminés, et ayant la séquence d'acides aminés SEQ ID NO 139.

- L'invention a également trait à un acide nucléique comprenant au
5. moins huit nucléotides consécutifs d'un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 92, un fragment biologiquement actif de celui-ci ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

- L'invention a aussi pour objet un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides avec un polynucléotide de séquence SEQ ID NO
- 10 92, un fragment biologiquement actif de celui-ci ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

- Un autre objet de l'invention consiste en un acide nucléique hybridant, dans des conditions de forte stringence, avec un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 92, un fragment biologiquement actif de celui-ci ou un
- 15 acide nucléique de séquence complémentaire.

POLYMORPHISMES AU SEIN DU GENE ABC1

MUTATIONS

- Selon l'invention, plusieurs mutations ont été identifiées dans la
- 20 séquence du gène ABC1, ces mutations conduisant à des altérations structurales majeures du polypeptide ABC1 codé par les séquences mutées. Ces mutations ont été retrouvées particulièrement dans des patients atteints de formes sévères de la maladie de Tangier, associées à de graves désordres coronariens. Deux mutations particulièrement délétères sont
- 25 décrites ci-après.

1. Mutation dans l'exon 12

- Cette mutation consiste à la fois en une délétion d'un segment de 14 nucléotides (" TGAGAGGAAGTTCT ") localisé du nucléotide en position 472
- 30 au nucléotide en position 485 de l'ADN génomique normal de séquence SEQ ID NO 2 et en une insertion d'une séquence de type Alu de 110 nucléotides au sein de la séquence de l'exon12 du gène ABC1, en amont du nucléotide en position 486 de l'ADN génomique normal de séquence SEQ ID NO 2.

L'exon 12 portant cette mutation de délétion/insertion a la séquence nucléotidique SEQ ID NO 93.

L'ADNc muté correspondant a la séquence nucléotidique SEQ ID NO 94, code pour un polypeptide ABC1 muté d'une longueur de 2233 acides aminés, de séquence SEQ ID NO 140, dont la structure est fortement altérée par rapport au polypeptide ABC1 normal de séquence SEQ ID NO 139.

Les séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93 et 94 ainsi que la séquence polypeptidique SEQ ID NO 140 font également partie de l'invention.

10

2 Mutation dans l'exon 13

Cette mutation consiste en une délétion du nucléotide (G) en position 1232 de la séquence génomique SEQ ID NO 2, qui est localisé dans l'exon 13 (nucléotide G en position 106 de la séquence de l'exon 13 SEQ ID NO 17). Cette délétion ponctuelle d'une base introduit un codon stop dans la phase de lecture normale dans l'ARNm du gène ABC1.

La séquence de l'exon 13 du gène ABC1 portant cette mutation est le polynucléotide de séquence SEQ ID NO 95.

L'ADNc correspondant à cette mutation dans l'exon 13 du gène ABC1 est représenté par la séquence nucléotidique SEQ ID NO 96.

La protéine mutée codée par le gène ABC1 muté ayant une longueur de 574 acides aminés, c'est-à-dire environ le quart de la longueur en acides aminés de la protéine normale. Le polypeptide tronqué a la séquence d'acides aminés SEQ ID NO 141.

Les caractéristiques structurales permettant de différencier les séquences normales des séquences mutées d'ABC1 (génomiques, ARN messagers, ADNc) peuvent être mises à profit afin de réaliser des moyens de détections des séquences mutées d'ABC1 dans un échantillon, en particulier des sondes hybridant spécifiquement avec les séquences mutées d'ABC1 ou encore des couples d'amorces permettant d'amplifier sélectivement les régions du gène ABC1 portant les mutations décrites ci-dessus, la détection de la présence de ces mutations pouvant notamment être effectuée par discrimination de la longueur des fragments d'acide nucléique amplifiés, par hybridation des fragments amplifiés à l'aide des

30

sondes spécifiques décrites ci-dessus, ou encore par séquençage direct de ces fragments amplifiés.

Ainsi, l'invention a encore pour objet un acide nucléique ayant au moins huit nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe
5 constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93-96, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

De préférence, un tel acide nucléique comprend :

- a) soit au moins deux nucléotides consécutifs de la séquence Alu localisée dans les séquences SEQ ID NO 93 et 94, de préférence
10 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 ou 100 nucléotides consécutifs de la séquence Alu localisée dans les séquences SEQ ID NO 93 et 94 ;
- b) soit au moins les deux nucléotides " CT " situés de par et d'autre de la base G délétée, dans les séquences SEQ ID NO 94
15 et 95.

Font également partie de l'invention les amorces hybridant avec une séquence nucléique localisée dans la région d'une séquence d'ABC1 (génomique, ARN messenger) portant l'une ou l'autre des deux mutations décrites ci-dessus.

20 L'invention concerne en outre un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93-96, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

L'invention est également relative à un acide nucléique hybridant,
25 dans des conditions de forte stringence, avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93-96, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

AUTRES POLYMORPHISMES

30 D'autres polymorphismes ont été retrouvés au sein de la séquence du gène ABC1, notamment des substitutions de nucléotides localisées à la fois dans les régions codantes (exons) et dans les régions non codantes.

Concernant les polymorphismes retrouvés au sein des régions codantes, il s'agit essentiellement de substitutions d'un seul nucléotide
35 localisé sur la troisième base des codons du cadre ouvert de lecture d'ABC1,

ces substitutions n'entraînant pas de modification quant à la nature de l'acide aminé codé, compte tenu des règles de dégénérescence génétique chez l'homme, bien connues de l'homme du métier.

Ces polymorphismes sont représentés dans la présente description sous la forme de séquences nucléotidiques d'une longueur de 41 bases, la base polymorphe étant localisée au centre du fragment polymorphe. Pour chacun des polymorphismes repérés, chaque allèle est ainsi représenté comme une séquence de 41 bases, le polymorphisme lui-même étant défini par les deux séquences nucléotidiques correspondant respectivement à chacune des formes. Les polymorphismes identifiés dans le gène ABC1 sont représentés dans le Tableau IV ci-dessous.

Tableau IV
Polymorphismes retrouvés dans le gène ABC1

Désignation N°	Position dans la séquence SEQ ID NO 2	Allèle 1 SEQ ID NO	Allèle 2 SEQ ID NO	Base polymorphe Allèle1/Allèle 2
1	397	97	98	G/A
2	1324	99	100	T/A
3	3028	101	102	C/T
4	3234	103	104	C/A
5	3390	105	106	A/G
6	6854	107	108	G/A

La détection de ces polymorphismes au sein d'un échantillon d'ADN provenant d'un sujet peut par exemple être réalisée par une amplification spécifique de la région nucléotidique d'ABC1 contenant la base polymorphe, puis séquençage du fragment amplifié afin de déterminer la nature de l'allèle ou des allèles portés par ledit sujet.

La détection de ces polymorphismes au sein d'un échantillon d'ADN provenant d'un sujet peut aussi être réalisé à l'aide de sondes ou d'amorces nucléotidiques hybridant spécifiquement avec un allèle déterminé contenant

l'une des bases polymorphes d'un polymorphisme du gène ABC1 selon l'invention.

A titre illustratif, des amorces nucléotidiques appropriées sont par exemple des amorces dont la base à l'extrémité 3' hybride avec la base localisée immédiatement du côté 5' de la base polymorphe du fragment
5 comprenant ledit polymorphisme. Après l'étape d'hybridation de l'amorce spécifique, une étape d'élongation avec un mélange des deux didéoxynucléotides complémentaires de la base polymorphe dudit polymorphisme, par exemple marqués différemment par fluorescence,
10 puis une étape de détection du signal de fluorescence obtenu permet de déterminer lequel des deux didéoxynucléotides fluorescents différemment marqués a été incorporé et de déduire directement la nature de la base polymorphe présente au niveau de ce polymorphisme.

Différentes approches peuvent être utilisées pour le marquage et la
15 détection des didéoxynucléotides. Une méthode en phase homogène basée sur le FRET ("Fluorescence resonance energy transfer") a été décrite par Chen et Kwok (1997). Selon cette méthode, des fragments amplifiés d'ADN génomique contenant des polymorphismes sont incubés avec une amorce marquée à la fluorescéine à l'extrémité 5', en présence de
20 didéoxynucléotides triphosphate marqués et une polymérase Taq modifiée. L'amorce marquée est allongée d'une base par incorporation du didéoxynucléotide marqué spécifique de l'allèle présent sur la séquence d'ADN génomique complémentaire. A la fin de cette réaction de génotypage, les intensités de fluorescence pour les deux composés marqueurs des
25 didéoxynucléotides marqués sont analysées directement sans séparation ni purification. L'ensemble de ces étapes peut être réalisé dans le même tube et les modifications du signal de fluorescence suivies en temps réel. Selon un autre mode de réalisation, l'amorce allongée peut être analysée par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF. La base localisée au niveau
30 du site polymorphique est identifiée par mesure de la masse ajoutée à l'amorce de microséquençage (Haff et Smirnov, 1997).

De telles amorces nucléotidiques peuvent par exemple être immobilisées sur un support. De plus, il est possible d'immobiliser sur un
35 support, par exemple de manière ordonnée, de multiples amorces

spécifiques telles que décrites ci-dessus, chacune des amorces étant adaptée à la détection de l'un des polymorphismes du gène ABC1 selon l'invention.

Les polymorphismes du gène ABC1 selon l'invention sont utiles
5 notamment comme marqueurs génétiques dans des études d'association entre la présence d'un allèle donné chez un sujet et la prédisposition de ce sujet à une pathologie donnée, particulièrement à l'une des pathologies déjà associées à la région chromosomique 9q31 préférentiellement à une pathologie liée à un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.

10 Les méthodes pour l'analyse génétique de caractères (phénotypes) complexes sont de différents types (Lander and Schork, 1994). En général, les polymorphismes bialléliques selon l'invention sont utiles dans l'un quelconque des procédés décrits dans l'état de la technique destiné à démontrer une corrélation statistiquement significative entre un génotype et
15 un phénotype. Les polymorphismes bialléliques peuvent être utilisés dans des analyses de liaison ("linkage analysis") et dans des procédés de partage d'allèles ("allele sharing"). De préférence, les polymorphismes bialléliques selon l'invention sont utilisés pour identifier des gènes associés à des caractères (phénotypes) détectables en utilisation des études d'association,
20 une approche qui ne nécessite pas le recours à des familles affectées par le caractère, et qui permet en outre l'identification de gènes associés à des caractères complexes et sporadiques.

D'autres méthodes statistiques mettant en œuvre des polymorphismes bialléliques selon l'invention sont par exemple celles
25 décrites par Forsell et al. (1997), Xiong et al. (1999), Horvath et al. (1998), Sham et al. (1995) ou encore Nickerson et al. (1992).

Selon un autre aspect, l'invention concerne également les séquences nucléotidiques du gène ABC1 comprenant au moins un polymorphisme biallélique tel que décrit ci-dessus.

30 Ainsi, l'invention est également relative à un acide nucléique ayant au moins huit nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 97-108 et comprenant la base polymorphe, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

SONDES ET AMORCES NUCLEOTIDIQUES

Les fragments d'acides nucléiques dérivés de l'une quelconque des séquences nucléotidiques SEQ ID N° 1-14, 15-47, 48-89, 90, 92, 94-96 et 97-108 sont utiles pour la détection de la présence d'au moins une copie
5 d'une séquence nucléotidique du gène ABC1 ou encore d'un fragment ou d'un variant (contenant une mutation ou un polymorphisme) de cette dernière dans un échantillon.

Les sondes ou les amorces nucléotidiques selon l'invention comprennent au moins 8 nucléotides consécutifs d'un acide nucléique choisi
10 dans le groupe constitué des séquences SEQ ID NO 1-14, 15-47, 48-89, 90, 92, 93-96 et 97-108, ou d'un acide nucléique de séquence complémentaire.

De préférence, des sondes ou amorces nucléotidiques selon l'invention auront une longueur de 10, 12, 15, 18 ou 20 à 25, 35, 40, 50, 70, 80, 100, 200, 500, 1000, 1500 nucléotides consécutifs d'un acide nucléique
15 selon l'invention, en particulier un acide nucléique de séquence nucléotidique choisie parmi les séquences SEQ ID NO 1-14, 15-47, 48-89, 90, 92, 93-96 et 97-108, ou d'un acide nucléique de séquence complémentaire.

Alternativement, une sonde ou une amorce nucléotidique selon l'invention consistera et/ou comprendra les fragments d'une longueur de 12, 15, 18, 20, 25, 35, 40, 50, 100, 200, 500, 1000, 1500 nucléotides consécutifs d'un acide nucléique selon l'invention, plus particulièrement d'un acide nucléique choisi parmi les séquences SEQ ID N°1-14, 15-47, 48-89, 90, 92,
25 93-96 et 97-108, ou d'un acide nucléique de séquence complémentaire.

La définition d'une sonde et d'une amorce nucléotidique selon l'invention englobe donc des oligonucléotides qui hybrident, dans les conditions d'hybridation de forte stringence définies ci-avant, avec un acide nucléique choisi parmi les séquences SEQ ID NO 1-14, 15-47, 48-89, 90,
30 92, 93-96 et 97-108 ou avec une séquence complémentaire de ces derniers.

Des exemples d'amorces et de couples d'amorces permettant d'amplifier différentes régions du gène ABC1 sont représentés dans le Tableau V ci-dessous.

Amorces pour l'amplification de fragments nucléiques du gène ABC1

Amorce N°	Localisée dans SEQ ID	Position dans la séquence	Séquence de l'amorce	Région d'hybridation
1	2	313-335	109	Intron 11
2	2	Comp 640-663	110	Intron 12
3	2	1005-1029	111	Intron 12
4	2	Comp 1472-1496	112	Intron 13
5	2	2930-2954	113	Intron 13
6	2	Comp 3444-3468	114	Intron 14
7	2	4988-5012	115	Intron 14
8	2	Comp 5338-5362	116	Intron 15
9	2	6240-6262	117	Intron 15
10	2	Comp 6581-6603	118	Intron 16
11	5	1369-1391	119	Intron 21
12	5	Comp 1748-1770	120	Intron 22
13	5	3868-3890	121	Intron 23
14	5	Comp 4240-4262	122	Intron 24
15	6	3587-3610	123	Intron 28
16	6	Comp 3881-3903	124	Intron 29
17	6	6753-6775	125	Intron 29
18	6	Comp 7112-7134	126	Intron 30
19	7	1060-1082	127	Intron 30
20	7	Comp 1377-1399	128	Intron 31

21	7	3574-3596	129	Intron 32
22	7	Comp 3909-3931	130	Intron 33
23	7	5161-5183	131	Intron 33
24	7	Comp 5463-5485	132	Intron 34
25	8	100-122	133	Intron 34
26	8	Comp 475-497	134	Intron 35
27	9	841-861	135	Intron 35
28	9	Comp 1249-1271	136	Intron 36
29	10	455-477	137	Intron 36
30	10	Comp 966-988	138	Intron 38

Selon un premier mode de réalisation de sondes et d'amorces préférées selon l'invention, celles-ci comprennent tout ou partie d'un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID NO 109-138, ou des acides nucléiques de séquence complémentaire.

Une amorce ou une sonde nucléotidique selon l'invention peut être préparée par toute méthode adaptée bien connue de l'homme du métier, y compris par clonage et action d'enzymes de restriction ou encore par synthèse chimique directe selon des techniques telles que la méthode au phosphodiester de Narang et al. (1979) ou de Brown et al. (1979), la méthode aux diéthylphosphoramidites de Beaucage et al. (1980) ou encore la technique sur support solide décrite dans le brevet EU N°EP 0 707 592.

Chacun des acides nucléiques selon l'invention, y compris les sondes et amorces oligonucléotidiques décrites ci-dessus, peut être marqué, si désiré, en incorporant un marqueur détectable par des moyens spectroscopiques, photochimiques, biochimiques, immunochimiques ou encore chimiques.

Par exemple, de tels marqueurs peuvent consister en des isotopes radioactifs (^{32}P , ^{33}P , ^3H , ^{35}S), des molécules fluorescentes (5-bromodeoxyuridine, fluorescéine, acétylaminofluorène, digoxigénine) ou encore des ligands tels que la biotine.

Le marquage des sondes est fait de préférence par incorporation de molécules marquées au sein des polynucléotides par extension d'amorces, ou bien par rajout sur les extrémités 5' ou 3'.

Des exemples de marquage non radioactifs de fragments d'acides nucléiques sont décrits notamment dans le brevet français n° FR 78 109 75 ou encore dans les articles de Urdea et al. (1988) ou Sanchez-pescador et al. (1988).

De manière avantageuse, les sondes selon l'invention peuvent avoir des caractéristiques structurales de nature à permettre une amplification du signal, telles que les sondes décrites par Urdea et al. (1991) ou encore dans le brevet européen n° EP-0 225 807 (CHIRON).

Les sondes oligonucléotides selon l'invention peuvent être utilisées notamment dans des hybridations de type Southern à l'ADN génomique ou encore dans des hybridations à l'ARN messager correspondant lorsque l'expression du transcrit correspondant est recherchée dans un échantillon.

Les sondes selon l'invention peuvent aussi être utilisées pour la détection de produits d'amplification PCR ou encore pour la détection de mésappariements.

Des sondes ou amorces nucléotidiques selon l'invention peuvent être immobilisées sur un support solide. De tels supports solides sont bien connus de l'homme du métier et comprennent des surfaces des puits de plaques de microtitration, des lits de polystyrène, des lits magnétiques, des bandes de nitrocellulose, ou encore des microparticules telles que des particules de latex.

En conséquence, la présente invention concerne également un procédé de détection de la présence d'un acide nucléique tel que décrit ci-avant dans un échantillon, ladite méthode comprenant les étapes de :

- 1) mettre en contact une ou plusieurs sondes nucléotidiques selon l'invention avec l'échantillon à tester ;
- 2) détecter le complexe éventuellement formé entre la ou les sondes et l'acide nucléique présent dans l'échantillon.

Selon un mode de réalisation particulier du procédé de détection selon l'invention, la ou les sondes oligonucléotidiques sont immobilisées sur un support.

Selon un autre aspect, les sondes oligonucléotidiques comprennent un marqueur détectable.

L'invention concerne en outre un nécessaire ou kit pour la détection de la présence d'un acide nucléique selon l'invention dans un échantillon, 5 ledit nécessaire comprenant :

- a) une ou plusieurs sondes nucléotidiques telles que décrites ci-dessus ;
- b) le cas échéant, les réactifs nécessaires à la réaction d'hybridation.

10 Selon un premier aspect, le nécessaire ou kit de détection est caractérisé en ce que la ou les sondes sont immobilisées sur un support.

Selon un second aspect, le nécessaire ou kit de détection est caractérisé en ce que les sondes oligonucléotidiques comprennent un marqueur détectable.

15 Selon un mode de réalisation particulier du kit de détection décrit ci-dessus, un tel kit comprendra une pluralité de sondes oligonucléotidiques conformes à l'invention qui pourront être utilisées pour détecter des séquences cibles d'intérêt ou alternativement détecter des mutations dans les régions codantes ou les régions non codantes des acides nucléiques 20 selon l'invention, plus particulièrement des acides nucléiques de séquences SEQ ID NO 1-14, 15-47, 48-89, 90, 92, 93-96 et 97-108 ou les acides nucléiques de séquence complémentaire.

Ainsi, les sondes selon l'invention immobilisées sur un support peuvent être ordonnées en matrices telles que les " puces à ADN ". De telles 25 matrices ordonnées ont été en particulier décrites dans le brevet US N° 5,143,854, dans les demandes PCT N° WO 90/150 70 et 92/10092.

Des matrices supports sur lesquelles des sondes oligonucléotidiques ont été immobilisées à une haute densité sont par exemple décrites dans les brevets US N°5,412,087 et dans la demande PCT N°WO 95/11995.

30 Les amorces nucléotidiques selon l'invention peuvent être utilisées pour amplifier l'un quelconque des acides nucléiques selon l'invention, et plus particulièrement tout ou partie d'un acide nucléique de séquences SEQ ID NO 1-14, 15-47, 48-89, 90, 92, 93-96 et 97-108, ou encore un variant de celui-ci.

Un autre objet de l'invention concerne un procédé pour l'amplification d'un acide nucléique selon l'invention, et plus particulièrement un acide nucléique de séquences SEQ ID NO 1-14, 15-47, 48-89, 90, 92, 93-96 et 97-108 ou un fragment ou un variant de celui-ci contenu dans un échantillon, ledit procédé comprenant les étapes de :

- a) mettre en contact l'échantillon dans lequel la présence de l'acide nucléique cible est suspectée avec une paire d'amorces nucléotidiques dont la position d'hybridation est localisée respectivement du côté 5' et du côté 3' de la région de l'acide nucléique cible dont l'amplification est recherchée, en présence des réactifs nécessaires à la réaction d'amplification ; et
- b) détection des acides nucléiques amplifiés.

Pour mettre en œuvre le procédé d'amplification tel que défini ci-dessus, on aura avantageusement recours à l'une quelconque des amorces nucléotidiques décrites ci-avant.

L'invention a en outre pour objet un nécessaire ou kit pour l'amplification d'un acide nucléique selon l'invention, et plus particulièrement tout ou partie d'un acide nucléique de séquences SEQ ID NO 1-14, 15-47, 48-89, 90, 92, 93-96 et 97-108 ledit nécessaire ou kit comprenant :

- a) un couple d'amorces nucléotidiques conformes à l'invention, dont la position d'hybridation est localisée respectivement du côté 5' et du côté 3' de l'acide nucléique cible dont l'amplification est recherchée ;
- b) le cas échéant, les réactifs nécessaires à la réaction d'amplification.

Un tel nécessaire ou kit d'amplification comprendra avantageusement au moins une paire d'amorces nucléotidiques telles que décrites ci-dessus.

Selon un premier mode de réalisation préféré, des amorces selon l'invention comprennent tout ou partie d'un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID NO 109 et 110, permettant d'amplifier la région de l'exon 12 du gène ABC1 portant la première mutation (délétion/insertion) décrite ci-dessus, ou des acides nucléiques de séquence complémentaire.

Selon un second mode de réalisation préféré, des amorces selon l'invention comprennent tout ou partie d'un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID NO 111 et 112, permettant d'amplifier la région de l'exon 13 du gène ABC1 portant la seconde mutation (délétion d'une base G) décrite ci-dessus, ou des acides nucléiques de séquence complémentaire.

Selon un troisième mode de réalisation préféré, des amorces selon l'invention comprennent, de manière générale, tout ou partie d'un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID NO 109-138, ou des acides nucléiques de séquence complémentaire.

Selon un quatrième mode de réalisation préféré, l'invention a également trait à des amorces nucléotidiques comprenant au moins 15 nucléotides consécutifs d'un acide nucléique choisi dans le groupe constitué des séquences SEQ ID NO 97-108 ou un acide nucléique de séquence complémentaire, la base de l'extrémité 3' de ces amorces étant complémentaire du nucléotide localisée immédiatement du côté 5' de la base polymorphe de l'une des séquences SEQ ID NO 97-108 ou de leurs séquences complémentaires.

Selon un autre aspect, l'invention concerne aussi des amorces nucléotidiques comprenant au moins 15 nucléotides consécutifs d'un acide nucléique choisi dans le groupe constitué des séquences SEQ ID NO 97-108 ou un acide nucléique de séquence complémentaire, la base de l'extrémité 3' de ces amorces étant complémentaire d'un nucléotide situé à 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 nucléotides ou plus du côté 5' de la base polymorphe de l'une des séquences SEQ ID NO 97-108 ou de leurs séquences complémentaires. Pour construire des amorces dont le nucléotide à l'extrémité 3' est complémentaire d'un nucléotide localisé à plus de 20 nucléotides du côté 5' de la base polymorphe de l'une des séquences SEQ ID NO 97-108, l'homme du métier se référera avantageusement à la séquence génomique correspondante parmi les séquences SEQ ID NO 1-14 ou encore SEQ ID NO 15-47 et 48-90, comprenant le polymorphisme dont la nature de l'allèle est recherchée.

De telles amorces sont particulièrement utiles dans le cadre de procédés de génotypage de sujets et/ou de génotypage de populations, notamment dans le cadre d'études d'association entre des formes allèles

particulières ou des formes de groupes d'allèles particulières (haplotypes) chez des sujets et l'existence d'un phénotype (caractère) particulier chez ces sujets, par exemple la prédisposition de ces sujets à développer des maladies liées à un déficit dans le transport inverse du cholestérol, ou
5 encore la prédisposition de ces sujets à développer une pathologie dont la région chromosomique candidate se situe sur le chromosome 9, plus précisément sur le bras 9q et plus précisément encore dans le locus 9q31.

VECTEURS RECOMBINANTS

10 L'invention est également relative à un vecteur recombinant comprenant un acide nucléique selon l'invention.

Avantageusement, un tel vecteur recombinant comprendra un acide nucléique choisi parmi les acides nucléiques suivants :

- a) un acide nucléique de séquence SEQ ID NO 92 ou un fragment
15 biologiquement actif de ce dernier ;
- b) un acide nucléique comprenant un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 91, 94 ou 96 ;
- c) un acide nucléique comprenant un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 15-47 et 48-90
- 20 d) un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides avec un acide nucléique choisi dans le groupe constitué des séquences SEQ ID NO 15-47 et 48-90 ou un fragment ou un variant de ce dernier ;
- d) un acide nucléique hybridant, dans des conditions d'hybridation de forte stringence, avec un acide nucléique de séquences SEQ ID NO 15-47 et
25 48-90, ou un fragment ou un variant de ce dernier.

Par "vecteur" au sens de la présente invention on entendra une molécule d'ADN ou d'ARN circulaire ou linéaire qui est indifféremment sous forme de simple brin ou double brin.

30 Selon un premier mode de réalisation, un vecteur recombinant selon l'invention est utilisé afin d'amplifier l'acide nucléique qui y est inséré après transformation ou transfection de l'hôte cellulaire désiré.

Selon un second mode de réalisation, il s'agit de vecteurs d'expression comprenant, outre un acide nucléique conforme à l'invention,

des séquences régulatrices permettant d'en diriger la transcription et/ou la traduction.

Selon un mode de réalisation avantageux, un vecteur recombinant selon l'invention comprendra notamment les éléments suivants :

- 5 (1) des éléments de régulation de l'expression de l'acide nucléique à insérer, tels que des promoteurs et des séquences activatrices (" enhancers ") ;
- (2) la séquence codante comprise dans l'acide nucléique conforme à l'invention à insérer dans un tel vecteur, ladite séquence codante étant
10 placée en phase avec les signaux de régulation décrits aux (1) ; et
- (3) des séquences d'initiation et d'arrêt de la transcription appropriées.

En outre, les vecteurs recombinants selon l'invention pourront inclure une ou plusieurs origines de réplication chez les hôtes cellulaires dans
15 lesquels leur amplification ou leur expression est recherchée, des marqueurs ou des marqueurs de sélection.

A titre d'exemples, les promoteurs bactériens pourront être les promoteurs LacI, LacZ, les promoteurs de l'ARN polymérase du bactériophage T3 ou T7, les promoteurs PR, ou PL du phage lambda.

20 Les promoteurs pour cellules eucaryotes comprendront le promoteur de la thymidine kinase du virus HSV ou encore le promoteur de la métallothionéine-L de souris.

De manière générale, pour le choix d'un promoteur adapté, l'homme du métier pourra avantageusement se référer à l'ouvrage de Sambrook et al.
25 (1989) précité ou encore aux techniques décrites par Fuller et al. (1996).

Lorsque l'expression de la séquence génomique du gène ABC1 sera désirée, on aura préférentiellement recours à des vecteurs capables d'inclure de grandes séquences d'insertion. Dans ce mode de réalisation particulier, on utilisera de préférence des vecteurs de bactériophages, tels
30 que les vecteurs de bactériophage P1 comme le vecteur p158 ou encore le vecteur p158/neo8 décrits par Sternberg (1992, 1994).

Les vecteurs bactériens préférés selon l'invention sont par exemple les vecteurs pBR322(ATCC37017) ou encore des vecteurs tels que pAA223-3 (Pharmacia, Uppsala, Suède), et pGEM1 (Promega Biotech, Madison, WI,
35 ETATS-UNIS).

On peut encore citer d'autres vecteurs commercialisés tels que les vecteurs pQE70, pQE60, pQE9 (Qiagen), psiX174, pBluescript SA, pNH8A, pNH16A, pNH18A, pNH46A, pWLNEO, pSV2CAT, pOG44, pXTI, pSG(Stratagene).

- 5 Il peut s'agir également de vecteurs de type *baculovirus* tel que le vecteur pVL1392/1393 (Pharmingen) utilisé pour transfecter les cellules de la lignée Sf9 (ATCC N°CRL 1711) dérivées de *Spodoptera frugiperda*.

Il peut encore s'agir de vecteurs adénoviraux tels que l'adénovirus humain de type 2 ou 5.

- 10 Un vecteur recombinant selon l'invention peut aussi être un vecteur rétroviral ou encore un vecteur adéno-associé (AAV). De tels vecteurs adéno-associés sont par exemple décrits par Flotte et al. (1992), Samulski et al. (1989), ou encore McLaughlin BA et al. (1996).

- 15 Pour permettre l'expression des polynucléotides selon l'invention, ces derniers doivent être introduits dans une cellule hôte. L'introduction des polynucléotides selon l'invention dans une cellule hôte peut être réalisée *in vitro*, selon les techniques bien connues de l'homme du métier pour transformer ou transfecter des cellules, soit en culture primaire, soit sous la
20 forme de lignées cellulaires. On peut aussi réaliser l'introduction des polynucléotides selon l'invention *in vivo* ou *ex vivo*, pour la prévention ou le traitement de maladies liées à un déficit dans le transport inverse du cholestérol.

- Pour introduire les polynucléotides ou les vecteurs dans une cellule
25 hôte, l'homme du métier pourra avantageusement se référer à différentes techniques, comme la technique de précipitation au phosphate de calcium (Graham et al., 1973 ; Chen et al., 1987), le DEAE Dextran (Gopal, 1985), l'électroporation (Tur-Kaspa, 1896 ; Potter et al., 1984), la microinjection directe (Harland et al., 1985), Les liposomes chargés en ADN (Nicolau et al.,
30 1982, Fraley et al., 1979).

- Une fois que le polynucléotide a été introduit dans la cellule hôte, il peut être intégré de manière stable dans le génome de la cellule. L'intégration peut être réalisée à un endroit précis du génome, par recombinaison homologue, ou peut être intégré au hasard. Dans certains
35 modes de réalisation, le polynucléotide peut être maintenu de manière stable

dans la cellule hôte sous la forme d'un fragment d'épisome, l'épisome comprenant des séquences permettant le maintien et la réplication de ce dernier, soit de manière indépendante, soit de manière synchronisée avec le cycle cellulaire.

5 Selon un mode de réalisation particulier, une méthode pour introduire un polynucléotide selon l'invention dans une cellule hôte, en particulier une cellule hôte provenant d'un mammifère, *in vivo*, comprend une étape au cours de laquelle on introduit une préparation comprenant un vecteur pharmaceutiquement compatible et un polynucléotide "nu" selon l'invention, 10 placé sous le contrôle de séquences de régulation appropriées, par injection locale au niveau du tissu choisi, par exemple un tissu musculaire lisse, le polynucléotide "nu" étant absorbé par les cellules de ce tissu.

Des compositions pour l'utilisation *in vitro* et *in vivo* comprenant des polynucléotides "nus" sont par exemples décrites dans la demande PCT N° 15 WO 95/11307 (Institut Pasteur, Inserm, Université d'Ottawa) ainsi que dans les articles de Tacson et al. (1996) et de Huygen et al. (1996).

Selon un mode de réalisation spécifique de l'invention, il est fourni une composition pour la production *in vivo* de la protéine ABC1. Cette composition comprend un polynucléotide codant pour le polypeptide ABC1 20 placé sous le contrôle de séquences régulatrices appropriées, en solution dans un vecteur physiologiquement acceptable.

La quantité de vecteur qui est injecté à l'organisme hôte choisi varie selon le site de l'injection. A titre indicatif, il peut être injecté entre environ 0,1 et environ 100 µg du polynucléotide codant la protéine ABC1 ans le corps 25 d'un animal, de préférence d'un patient susceptible de développer une maladie liée à un déficit dans le transport inverse du cholestérol ou ayant déjà développé cette maladie, en particulier un patient ayant une prédisposition pour la maladie de Tangier ou ayant déjà développé la maladie.

30 En conséquence, l'invention concerne également une composition pharmaceutique destinée à la prévention ou au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol, comprenant un acide nucléique codant pour la protéine ABC1, en association avec un ou plusieurs excipients physiologiquement compatibles.

Avantageusement, une telle composition comprendra le polynucléotide de séquence SEQ ID NO 91, placé sous le contrôle des éléments de régulation appropriés.

L'invention a en outre pour objet une composition pharmaceutique destinée à la prévention ou au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol, comprenant un vecteur recombinant selon l'invention, en association avec un ou plusieurs excipients physiologiquement compatibles.

L'invention est également relative à l'utilisation d'un acide nucléique selon l'invention, codant pour la protéine ABC1, pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de l'Athérosclérose sous diverses formes ou plus particulièrement au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.

L'invention a également trait à l'utilisation d'un vecteur recombinant selon l'invention, comprenant un acide nucléique codant pour la protéine ABC1, pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de l'Athérosclérose sous diverses formes ou plus particulièrement au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.

20

Vecteurs utiles dans des procédés de thérapie génique somatique et compositions contenant de tels vecteurs

La présente invention concerne aussi une nouvelle approche thérapeutique pour le traitement des pathologies liées au transport du cholestérol. Elle propose une solution avantageuse aux inconvénients de l'art antérieur, en démontrant la possibilité de traiter les pathologies liées au transport du cholestérol par la thérapie génique, par le transfert et l'expression in vivo d'un gène codant pour une protéine ABC1 impliquée dans le transport et le métabolisme du cholestérol. L'invention offre ainsi un moyen simple permettant un traitement spécifique et efficace des pathologies associées comme par exemple l'Athérosclérose.

La thérapie génique consiste à corriger une déficience ou une anomalie (mutation, expression aberrante, etc) ou à assurer l'expression d'une protéine d'intérêt thérapeutique par introduction d'une information

génétique dans la cellule ou l'organe affecté. Cette information génétique peut être introduite soit ex vivo dans une cellule extraite de l'organe, la cellule modifiée étant alors réintroduite dans l'organisme, soit directement in vivo dans le tissu approprié. Dans ce second cas, différentes techniques existent, parmi lesquelles des techniques diverses de transfection impliquant des complexes d'ADN et de DEAE-dextran (Pagano et al., J.Virol. 1 (1967) 891), d'ADN et de protéines nucléaires (Kaneda et al., Science 243 (1989) 375), d'ADN et de lipides (Felgner et al., PNAS 84 (1987) 7413), l'emploi de liposomes (Fraleigh et al., J.Biol.Chem. 255 (1980) 10431), etc. Plus récemment, l'emploi de virus comme vecteurs pour le transfert de gènes est apparu comme une alternative prometteuse à ces techniques physiques de transfection. A cet égard, différents virus ont été testés pour leur capacité à infecter certaines populations cellulaires. En particulier, les rétrovirus (RSV, HMS, MMS, etc), le virus HSV, les virus adéno-associés, et les adénovirus.

La présente invention est donc également relative à une nouvelle approche thérapeutique pour le traitement des pathologies liées au transport du cholestérol, consistant à transférer et à exprimer in vivo des gènes codant pour ABC1. De manière particulièrement avantageuse, la demanderesse a maintenant montré qu'il est possible de construire des virus recombinants contenant une séquence d'ADN codant pour une protéine ABC1 impliquée dans le métabolisme du cholestérol, d'administrer ces virus recombinants in vivo, et que cette administration permet une expression stable et efficace d'une protéine ABC1 biologiquement active in vivo, et sans effet cytopathologique.

La présente invention résulte également de la mise en évidence que les adénovirus constituent des vecteurs particulièrement efficaces pour le transfert et l'expression du gène ABC1. En particulier, la présente invention montre que l'utilisation d'adénovirus recombinants comme vecteurs permet d'obtenir des niveaux d'expression suffisamment élevés de ce gène pour produire l'effet thérapeutique recherché. D'autres vecteurs viraux tels que les rétrovirus ou les virus adéno-associés (AAV) permettant une expression stable du gène sont aussi revendiqués.

La présente invention offre ainsi une nouvelle approche pour le traitement et la prévention des pathologies cardiovasculaires et neurologiques liées aux anomalies du transport du cholestérol.

L'invention a donc aussi pour objet un virus recombinant défectif comprenant une séquence nucléique codant pour une protéine ABC1 impliquée dans le métabolisme du cholestérol.

L'invention a également trait à l'utilisation d'un tel virus recombinant
5 défectif pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement et/ou à la prévention des maladies cardiovasculaires.

La présente invention concerne également l'utilisation de cellules modifiées génétiquement ex vivo par un virus tel que décrit ci-dessus, ou de cellules productrices de tels virus, implantées dans l'organisme, permettant
10 une expression in vivo prolongée et efficace d'une protéine ABC1 biologiquement active.

La présente invention montre qu'il est possible d'incorporer une séquence d'ADN codant pour ABC1 dans un vecteur viral, et que ces
15 vecteurs permettent d'exprimer efficacement une forme mature, biologiquement active. Plus particulièrement, l'invention montre que l'expression in vivo de ABC1 peut être obtenue par administration directe d'un adénovirus ou par implantation d'une cellule productrice ou génétiquement modifiée par un adénovirus ou par un rétrovirus incorporant
20 un tel ADN.

La présente invention est particulièrement avantageuse car elle permet d'induire une expression contrôlée et sans effet nocif de ABC1 dans des organes qui ne sont pas normalement concernés par l'expression de cette protéine. En particulier, une libération significative de la protéine ABC1
25 est obtenue par implantation de cellules productrices de vecteurs de l'invention, ou infectées ex vivo par des vecteurs de l'invention.

L'activité de transporteur du cholestérol produit dans le cadre de la présente invention peut être du type ABC1 humaine ou animale. La séquence nucléique utilisée dans le cadre de la présente invention peut être
30 un ADNc, un ADN génomique (ADNg), un ARN (dans le cas des rétrovirus) ou une construction hybride consistant par exemple en un ADNc dans lequel seraient insérés un ou plusieurs introns. Il peut également s'agir de séquences synthétiques ou semi-synthétiques. De manière particulièrement avantageuse, on utilise un ADNc ou un ADNg. En particulier, l'utilisation d'un
35 ADNg permet une meilleure expression dans les cellules humaines. Pour

permettre leur incorporation dans un vecteur viral selon l'invention, ces séquences sont avantageusement modifiées, par exemple par mutagenèse dirigée, en particulier pour l'insertion de sites de restriction appropriés. Les séquences décrites dans l'art antérieur ne sont en effet pas construites pour
5 une utilisation selon l'invention, et des adaptations préalables peuvent s'avérer nécessaires, pour obtenir des expressions importantes. Dans le cadre de la présente invention, on préfère utiliser une séquence nucléique codant pour une protéine ABC1 humaine. Par ailleurs, il est également possible d'utiliser une construction codant pour un dérivé de ces protéines
10 ABC1. Un dérivé de ces protéines ABC1 comprend par exemple toute séquence obtenue par mutation, délétion et/ou addition par rapport à la séquence native, et codant pour un produit conservant l'activité transporteur de cholestérol. Ces modifications peuvent être réalisées par les techniques connues de l'homme du métier (voir techniques générales de biologie
15 moléculaire ci-après). L'activité biologique des dérivés ainsi obtenus peut ensuite être aisément déterminée, comme indiqué notamment dans les exemples la mesure de l'efflux de cholestérol à partir des cellules. Les dérivés au sens de l'invention peuvent également être obtenus par hybridation à partir de banques d'acides nucléiques, en utilisant comme
20 sonde la séquence native ou un fragment de celle-ci.

Ces dérivés sont notamment des molécules ayant une plus grande affinité pour leurs sites de fixation, des molécules présentant une plus grande résistance aux protéases, des molécules ayant une efficacité thérapeutique plus grande ou des effets secondaires moindres, ou
25 éventuellement de nouvelles propriétés biologiques. Les dérivés incluent également les séquences d'ADN modifiées permettant une expression améliorée in vivo.

Dans un premier mode de réalisation, la présente invention concerne un virus recombinant défectif comprenant une séquence d'ADNc codant
30 pour une protéine ABC1 impliquée dans le transport et le métabolisme du cholestérol. Dans un autre mode de réalisation préféré de l'invention, la séquence d'ADN est une séquence d'ADNg.

Les vecteurs de l'invention peuvent être préparés à partir de différents types de virus. Préférentiellement, on utilise des vecteurs dérivés
35 des adénovirus, des virus adéno-associés (AAV), des virus de l'herpès

(HSV) ou des rétrovirus. Il est tout particulièrement avantageux d'utiliser un adénovirus, pour une administration directe ou pour la modification ex vivo de cellules destinées à être implantées, ou un rétrovirus, pour l'implantation de cellules productrices.

5 Les virus selon l'invention sont défectifs, c'est-à-dire qu'ils sont incapables de se répliquer de façon autonome dans la cellule cible. Généralement, le génome des virus défectifs utilisés dans le cadre de la présente invention est donc dépourvu au moins des séquences nécessaires à la réplication dudit virus dans la cellule infectée. Ces régions peuvent être
10 soit éliminées (en tout ou en partie), soit rendues non-fonctionnelles, soit substituées par d'autres séquences et notamment par la séquence nucléique codant pour la protéine ABC1. Préférentiellement, le virus défectif conserve néanmoins les séquences de son génome qui sont nécessaires à l'encapsidation des particules virales.

15 S'agissant plus particulièrement d'adénovirus, différents sérotypes, dont la structure et les propriétés varient quelque peu, ont été caractérisés. Parmi ces sérotypes, on préfère utiliser dans le cadre de la présente invention les adénovirus humains de type 2 ou 5 (Ad 2 ou Ad 5) ou les adénovirus d'origine animale (voir demande WO94/26914). Parmi les
20 adénovirus d'origine animale utilisables dans le cadre de la présente invention on peut citer les adénovirus d'origine canine, bovine, murine, (exemple : Mav1, Beard et al., Virology 75 (1990) 81), ovine, porcine, aviaire ou encore simienne (exemple : SAV). De préférence, l'adénovirus d'origine animale est un adénovirus canin, plus préférentiellement un adénovirus
25 CAV2 [souche Manhattan ou A26/61 (ATCC VR-800) par exemple]. De préférence, on utilise dans le cadre de l'invention des adénovirus d'origine humaine ou canine ou mixte. Préférentiellement, les adénovirus défectifs de l'invention comprennent les ITR, une séquence permettant l'encapsidation et la séquence codant pour la protéine ABC1. Avantageusement, dans le
30 génome des adénovirus de l'invention, la région E1 au moins est rendue non fonctionnelle. Encore plus préférentiellement, dans le génome des adénovirus de l'invention, le gène E1 et au moins l'un des gènes E2, E4, L1-L5 sont non fonctionnels. Le gène viral considéré peut être rendu non fonctionnel par toute technique connue de l'homme du métier, et notamment
35 par suppression totale, substitution, délétion partielle, ou addition d'une ou

plusieurs bases dans le ou les gènes considérés. De telles modifications peuvent être obtenues in vitro (sur de l'ADN isolé) ou in situ, par exemple, au moyens des techniques du génie génétique, ou encore par traitement au moyen d'agents mutagènes. D'autres régions peuvent également être
5 modifiées, et notamment la région E3 (WO95/02697), E2 (WO94/28938), E4 (WO94/28152, WO94/12649, WO95/02697) et L5 (WO95/02697). Selon un mode préféré de mise en œuvre, l'adénovirus selon l'invention comprend une délétion dans les régions E1 et E4 et la séquence codant pour ABC1 est insérée au niveau de la région E1 inactivée. Selon un autre mode de
10 réalisation préféré, il comprend une délétion dans région E1 au niveau de laquelle sont insérés la région E4 et la séquence codant pour ABC1 (Demande de brevet Français FR94 13355).

Les adénovirus recombinants défectifs selon l'invention peuvent être préparés par toute technique connue de l'homme du métier (Leverro et al.,
15 Gene 101 (1991) 195, EP 185 573; Graham, EMBO J. 3 (1984) 2917). En particulier, ils peuvent être préparés par recombinaison homologue entre un adénovirus et un plasmide portant entre autre la séquence d'ADN codant pour la protéine ABC1. La recombinaison homologue se produit après co-transfection desdits adénovirus et plasmide dans une lignée cellulaire
20 appropriée. La lignée cellulaire utilisée doit de préférence (i) être transformable par lesdits éléments, et (ii), comporter les séquences capables de compléter la partie du génome de l'adénovirus défectif, de préférence sous forme intégrée pour éviter les risques de recombinaison. A titre d'exemple de lignée, on peut mentionner la lignée de rein embryonnaire
25 humain 293 (Graham et al., J. Gen. Virol. 36 (1977) 59) qui contient notamment, intégrée dans son génome, la partie gauche du génome d'un adénovirus Ad5 (12 %) ou des lignées capables de compléter les fonctions E1 et E4 telles que décrites notamment dans les demandes n° WO 94/26914 et WO95/02697.

30 Ensuite, les adénovirus qui se sont multipliés sont récupérés et purifiés selon les techniques classiques de biologie moléculaire, comme illustré dans les exemples.

Concernant les virus adéno-associés (AAV), il s'agit de virus à ADN de taille relativement réduite, qui s'intègrent dans le génome des cellules
35 qu'ils infectent, de manière stable et site-spécifique. Ils sont capables

d'infecter un large spectre de cellules, sans induire d'effet sur la croissance, la morphologie ou la différenciation cellulaires. Par ailleurs, ils ne semblent pas impliqués dans des pathologies chez l'homme. Le génome des AAV a été cloné, séquencé et caractérisé. Il comprend environ 4700 bases, et
5 contient à chaque extrémité une région répétée inversée (ITR) de 145 bases environ, servant d'origine de réplication pour le virus. Le reste du génome est divisé en 2 régions essentielles portant les fonctions d'encapsidation : la partie gauche du génome, qui contient le gène rep impliqué dans la réplication virale et l'expression des gènes viraux; la partie droite du génome,
10 qui contient le gène cap codant pour les protéines de capsid du virus.

L'utilisation de vecteurs dérivés des AAV pour le transfert de gènes in vitro et in vivo a été décrite dans la littérature (voir notamment WO 91/18088; WO 93/09239; US 4,797,368, US5,139,941, EP 488 528). Ces demandes décrivent différentes constructions dérivées des AAV, dans
15 lesquelles les gènes rep et/ou cap sont délétés et remplacés par un gène d'intérêt, et leur utilisation pour transférer in vitro (sur cellules en culture) ou in vivo (directement dans un organisme) ledit gène d'intérêt. Toutefois, aucun de ces documents ne décrit ni ne suggère l'utilisation d'un AAV recombinant pour le transfert et l'expression in vivo ou ex vivo d'une protéine
20 ABC1, ni les avantages d'un tel transfert. Les AAV recombinants défectifs selon l'invention peuvent être préparés par co-transfection, dans un lignée cellulaire infectée par un virus auxiliaire humain (par exemple un adénovirus), d'un plasmide contenant la séquence codant pour la protéine ABC1 bordée de deux régions répétées inversées (ITR) d'AAV, et d'un
25 plasmide portant les gènes d'encapsidation (gènes rep et cap) d'AAV. Les AAV recombinants produits sont ensuite purifiés par des techniques classiques.

Concernant les virus de l'herpès et les rétrovirus, la construction de vecteurs recombinants a été largement décrite dans la littérature : voir
30 notamment Breakfield et al., New Biologist 3 (1991) 203; EP 453242, EP178220, Bernstein et al. Genet. Eng. 7 (1985) 235; McCormick, BioTechnology 3 (1985) 689, etc.

En particulier, les rétrovirus sont des virus intégratifs, infectant les cellules en division. Le génome des rétrovirus comprend essentiellement
35 deux LTR, une séquence d'encapsidation et trois régions codantes (gag, pol

et env). Dans les vecteurs recombinants dérivés des rétrovirus, les gènes gag, pol et env sont généralement délétés, en tout ou en partie, et remplacés par une séquence d'acide nucléique hétérologue d'intérêt. Ces vecteurs peuvent être réalisés à partir de différents types de rétrovirus tels que notamment le MoMuLV ("murine moloney leukemia virus"; encore désigné MoMLV), le MSV ("murine moloney sarcoma virus"), le HaSV ("harvey sarcoma virus"); le SNV ("spleen necrosis virus"); le RSV ("roux sarcoma virus") ou encore le virus de Friend.

Pour construire des rétrovirus recombinants comportant une séquence codant pour la protéine ABC1 selon l'invention, un plasmide comportant notamment les LTR, la séquence d'encapsidation et ladite séquence codante est généralement construit, puis utilisé pour transfecter une lignée cellulaire dite d'encapsidation, capable d'apporter en trans les fonctions rétrovirales déficientes dans le plasmide. Généralement, les lignées d'encapsidation sont donc capables d'exprimer les gènes gag, pol et env. De telles lignées d'encapsidation ont été décrites dans l'art antérieur, et notamment la lignée PA317 (US4,861,719); la lignée PsiCRIP (WO90/02806) et la lignée GP+envAm-12 (WO89/07150). Par ailleurs, les rétrovirus recombinants peuvent comporter des modifications au niveau des LTR pour supprimer l'activité transcriptionnelle, ainsi que des séquences d'encapsidation étendues, comportant une partie du gène gag (Bender et al., J. Virol. 61 (1987) 1639). Les rétrovirus recombinants produits sont ensuite purifiés par des techniques classiques.

Pour la mise en œuvre de la présente invention, il est tout particulièrement avantageux d'utiliser un adénovirus recombinant défectif. Les résultats donnés ci-après démontrent en effet les propriétés particulièrement intéressantes des adénovirus pour l'expression in vivo d'une protéine ayant une activité de transport de cholestérol. Les vecteurs adénoviraux selon l'invention sont particulièrement avantageux pour une administration directe in vivo d'une suspension purifiée, ou pour la transformation ex vivo de cellules, notamment autologues, en vue de leur implantation. De plus, les vecteurs adénoviraux selon l'invention présentent en outre des avantages importants, tels que notamment leur très haute efficacité d'infection, permettant de réaliser des infections à partir de faibles volumes de suspension virale.

Selon un autre mode particulièrement avantageux de mise en œuvre de l'invention, on utilise une lignée productrice de vecteurs rétroviraux contenant la séquence codant pour la protéine ABC1, pour une implantation in vivo. Les lignées utilisables à cet effet sont notamment les cellules PA317
5 (US4,861,719), PsiCrip (WO90/02806) et GP+envAm-12 (US5,278,056), modifiées pour permettre la production d'un rétrovirus contenant une séquence nucléique codant pour une protéine ABC1 selon l'invention. Par exemple des cellules souches totipotente, précurseurs des lignées cellulaires sanguines, peuvent être prélevées et isolées chez le sujet. Ces cellules
10 mises en culture peuvent être alors transfectées par le vecteur rétroviral contenant la séquence codant pour la protéine ABC1 sous le contrôle de promoteurs viraux, non viraux, non viraux et spécifiques des macrophages ou encore sous le contrôle de son propre promoteur. Ces cellules sont alors re-introduites chez le sujet. La différenciation de ces cellules sera à l'origine
15 de cellules sanguines exprimant la protéine ABC1, notamment à l'origine des monocytes qui, transformés en macrophages, participent à l'élimination du cholestérol de la paroi artériel. Ces macrophages exprimant la protéine ABC1 auront une capacité accrue à métaboliser le cholestérol en excès et le mettront à disposition à la surface cellulaire pour son élimination par les
20 accepteurs primaires du cholestérol membranaire.

Avantageusement, dans les vecteurs de l'invention, la séquence codant pour la protéine ABC1 est placée sous le contrôle de signaux permettant son expression dans les cellules infectées. Il peut s'agir de signaux d'expression homologues ou hétérologues, c'est-à-dire de signaux
25 différents de ceux naturellement responsables de l'expression de la protéine ABC1. Il peut s'agir en particulier de séquences responsables de l'expression d'autres protéines, ou de séquences synthétiques. Notamment, il peut s'agir de séquences de gènes eucaryotes ou viraux ou de séquences dérivées, stimulant ou réprimant la transcription d'un gène de façon
30 spécifique ou non et de façon inductible ou non. A titre d'exemple, il peut s'agir de séquences promotrices issues du génome de la cellule que l'on désire infecter, ou du génome d'un virus, et notamment, les promoteurs des gènes E1A, MLP d'adénovirus, le promoteur CMV, LTR-RSV, etc. Parmi les promoteurs eucaryotes, on peut citer également les promoteurs ubiquitaires
35 (HPRT, vimentine, α -actine, tubuline, etc), les promoteurs des filaments

intermédiaires (desmine, neurofilaments, kératine, GFAP, etc) les promoteurs de gènes thérapeutiques (type MDR, CFTR, facteur VIII, etc) les promoteurs spécifiques de tissus (pyruvate kinase, villine, promoteur de la protéine intestinale de liaison des acides gras, promoteur de l'actine α des
5 cellules du muscle lisse, promoteurs spécifiques pour le foie ; Apo AI, Apo AII, Albumine humaine etc) ou encore les promoteurs répondant à un stimulus (récepteur des hormones stéroïdes, récepteur de l'acide rétinoïque, etc.). En outre, ces séquences d'expression peuvent être modifiées par addition de séquences d'activation, de régulation, etc. Par ailleurs, lorsque le
10 gène inséré ne comporte pas de séquences d'expression, il peut être inséré dans le génome du virus défectif en aval d'une telle séquence.

Dans un mode particulier de réalisation, l'invention concerne un virus recombinant défectif comprenant une séquence nucléique codant pour une la protéine ABC1 impliquée dans le métabolisme du cholestérol sous le
15 contrôle d'un promoteur choisi parmi le LTR-RSV ou le promoteur précoce du CMV.

Comme indiqué ci-avant, la présente invention concerne également toute utilisation d'un virus tel que décrit ci-dessus pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement et/ou à la prévention
20 des pathologies liées au transport du cholestérol.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant un ou plusieurs virus recombinants défectifs tels que décrits précédemment. Ces compositions pharmaceutiques peuvent être formulées en vue d'administrations par voie topique, orale, parentérale,
25 intranasale, intraveineuse, intramusculaire, sous-cutanée, intraoculaire, transdermique, etc. De préférence, les compositions pharmaceutiques de l'invention contiennent un véhicule pharmaceutiquement acceptable pour une formulation injectable, notamment pour une injection intraveineuse, telle que par exemple dans la veine porte du patient. Il peut s'agir en particulier
30 de solutions stériles, isotoniques, ou de compositions sèches, notamment lyophilisées, qui, par addition selon le cas d'eau stérilisée ou de sérum physiologique, permettent la constitution de solutés injectables. L'injection directe dans la veine porte du patient est avantageuse car elle permet de cibler l'infection au niveau du foie et ainsi, de concentrer l'effet thérapeutique
35 au niveau de cet organe.

Les doses de virus recombinant défectif utilisées pour l'injection peuvent être adaptées en fonction de différents paramètres, et notamment en fonction du vecteur viral, du mode d'administration utilisé, de la pathologie concernée ou encore de la durée du traitement recherchée. D'une manière générale, les adénovirus recombinants selon l'invention sont formulés et administrés sous forme de doses comprises entre 10^4 et 10^{14} pfu/ml, et de préférence 10^6 à 10^{10} pfu/ml. Le terme pfu ("plaque forming unit") correspond au pouvoir infectieux d'une solution de virus, et est déterminé par infection d'une culture cellulaire appropriée, et mesure, généralement après 48 heures, du nombre de plages de cellules infectées. Les techniques de détermination du titre pfu d'une solution virale sont bien documentées dans la littérature.

Concernant les rétrovirus, les compositions selon l'invention peuvent comporter directement les cellules productrices, en vue de leur implantation.

A cet égard, un autre objet de l'invention concerne toute cellule de mammifère infectée par un ou plusieurs virus recombinants défectifs tels que décrits ci-dessus. Plus particulièrement, l'invention concerne toute population de cellules humaines infectée par ces virus. Il peut s'agir en particulier de cellules d'origine sanguine (cellules souche totipotente ou précurseurs), fibroblastes, myoblastes, hépatocytes, kératinocytes, cellules musculaires lisses et endothéliales, cellules gliales, etc.

Les cellules selon l'invention peuvent être issues de cultures primaires. Celles-ci peuvent être prélevées par toute technique connue de l'homme du métier, puis mises en culture dans des conditions permettant leur prolifération. S'agissant plus particulièrement de fibroblastes, ceux-ci peuvent être aisément obtenus à partir de biopsies, par exemple selon la technique décrite par Ham [Methods Cell.Biol. 21a (1980) 255]. Ces cellules peuvent être utilisées directement pour l'infection par les virus, ou conservées, par exemple par congélation, pour l'établissement de banques autologues, en vue d'une utilisation ultérieure. Les cellules selon l'invention peuvent également être des cultures secondaires, obtenues par exemple à partir de banques préétablies (voir par exemple EP 228458, EP 289034, EP 400047, EP 456640).

Les cellules en culture sont ensuite infectées par les virus recombinants, pour leur conférer la capacité de produire une protéine ABC1

biologiquement active. L'infection est réalisée in vitro selon des techniques connues de l'homme du métier. En particulier, selon le type de cellules utilisé et le nombre de copies de virus par cellule désiré, l'homme du métier peut adapter la multiplicité d'infection et éventuellement le nombre de cycles d'infection réalisé. Il est bien entendu que ces étapes doivent être effectuées dans des conditions de stérilité appropriées lorsque les cellules sont destinées à une administration in vivo. Les doses de virus recombinant utilisées pour l'infection des cellules peuvent être adaptées par l'homme du métier selon le but recherché. Les conditions décrites ci avant pour l'administration in vivo peuvent être appliquées à l'infection in vitro. Pour l'infection par des rétrovirus, il est également possible de co-cultiver les cellules que l'on désire infecter avec des cellules productrices des rétrovirus recombinants selon l'invention. Ceci permet de s'affranchir de la purification des rétrovirus.

Un autre objet de l'invention concerne un implant comprenant des cellules de mammifères infectées par un ou plusieurs virus recombinants défectifs telles que décrites ci-dessus ou des cellules productrices de virus recombinants, et une matrice extracellulaire. Préférentiellement, les implants selon l'invention comprennent 10^5 à 10^{10} cellules. Plus préférentiellement, ils en comprennent 10^6 à 10^8 .

Plus particulièrement, dans les implants de l'invention, la matrice extracellulaire comprend un composé gélifiant et éventuellement un support permettant l'ancrage des cellules.

Pour la préparation des implants selon l'invention, différents types de gélifiants peuvent être employés. Les gélifiants sont utilisés pour l'inclusion des cellules dans une matrice ayant la constitution d'un gel, et pour favoriser l'ancrage des cellules sur le support, le cas échéant. Différents agents d'adhésion cellulaire peuvent donc être utilisés comme gélifiants, tels que notamment le collagène, la gélatine, les glycosaminoglycans, la fibronectine, les lectines, etc. De préférence, on utilise dans le cadre de la présente invention du collagène. Il peut s'agir de collagène d'origine humaine, bovine ou murine. Plus préférentiellement, on utilise du collagène de type I.

Comme indiqué ci avant, les compositions selon l'invention comprennent avantageusement un support permettant l'ancrage des

cellules. Le terme ancrage désigne toute forme d'interaction biologique et/ou chimique et/ou physique entraînant l'adhésion et/ou la fixation des cellules sur le support. Par ailleurs, les cellules peuvent soit recouvrir le support utilisé, soit pénétrer à l'intérieur de ce support, soit les deux. On préfère
5 utiliser dans le cadre de l'invention un support solide, non toxique et/ou bio-compatible. En particulier, on peut utiliser des fibres de polytétrafluoroéthylène (PTFE) ou un support d'origine biologique.

La présente invention offre ainsi un moyen très efficace pour le traitement ou la prévention des pathologies liées au transport du cholestérol, en particulier l'obésité, l'hypertriglycémie, ou, dans le domaine des
10 affections cardiovasculaires, l'infarctus du myocarde, l'angor, la mort subite, la décompensation cardiaque et les accidents cérébro-vasculaires.

En outre, ce traitement peut concerner aussi bien l'homme que tout animal tel que les ovins, les bovins, les animaux domestiques (chiens, chats,
15 etc), les chevaux, les poissons, etc.

CELLULES HOTES RECOMBINANTES

L'invention concerne aussi une cellule hôte recombinante comprenant
20 l'un quelconque des acides nucléiques de l'invention, et plus particulièrement un acide nucléique de séquence SEQ ID NO 91, 94 ou 96

Selon un autre aspect, l'invention est également relative à une cellule hôte recombinante comprenant un vecteur recombinant tel que ci-dessus décrit.

25 Les cellules hôtes préférées selon l'invention sont par exemple les suivantes :

a) cellules hôtes procaryotes: souches d'*Escherichia coli* (souche DH5- α), de *Bacillus subtilis*, de *Salmonella typhimurium*, ou encore des
30 souches d'espèces telles que *Pseudomonas*, *Streptomyces* et *Staphylococcus* ;

b) cellules hôtes eucaryotes: cellules HeLa (ATCC N°CCL2), cellules Cv 1 (ATCC N°CCL70), cellules COS (ATCC N°CRL 1650), cellules Sf-9

(ATCC N°CRL 1711), cellules CHO (ATCC N°CCL-61) ou encore cellules 3T3 (ATCC N°CRL-6361).

POLYPEPTIDES ABC1 MUTES

5 Selon un autre aspect, l'invention concerne un polypeptide codé par un gène ABC1 muté, et plus particulièrement un gène ABC1 muté chez des patients atteints d'un déficit dans le transport inverse du cholestérol, tout particulièrement chez des patients atteints de la maladie de Tangier.

Comme déjà indiqué précédemment, deux mutations délétères ont
10 été identifiées chez des patients atteints de la maladie de Tangier.

La première mutation correspond à l'insertion d'un fragment d'une centaine de paires de bases au sein de la séquence codante, au niveau de l'exon 12 du gène ABC1, conduisant à la production d'un polypeptide biologiquement inactif de 2233 acides aminés de séquence SEQ ID NO 140.
15 Le polypeptide ABC1 muté de séquence SEQ ID NO 140 possède, par rapport au polypeptide normal de séquence SEQ ID NO 139, les différences suivantes :

a) une délétion d'un fragment peptidique de séquence "DERKFW" et le remplacement de ce fragment peptidique par la séquence
20 "EYSGV TSAHCNLCLLSSSDSRASASQVAGITAPATTPG" codée par le fragment nucléotidique de type Alu inséré.

La seconde mutation concerne l'introduction d'un codon stop précoce dans le premier quart de la séquence codante, au niveau de l'exon 13 du gène ABC1, conduisant à la production d'un polypeptide tronqué ayant 574
25 acides aminés de séquence SEQ ID NO 141. En outre, la délétion de la base G induit un changement du cadre de lecture conduisant à une protéine dont l'extrémité COOH-terminale ne se retrouve pas dans la séquence d'acides aminés du polypeptide ABC1 normal. Il s'agit de la séquence COOH-terminale "RAPRRKLVSICNRCPIPVTLMTSFCG" du polypeptide
30 ABC1 muté de séquence SEQ ID NO 141.

Ces deux polypeptides sont utiles notamment pour la préparation d'anticorps les reconnaissant spécifiquement. De tels anticorps constituent des moyens de détection de la production de ces polypeptides ABC1 mutés dans un échantillon provenant d'un sujet à tester, préférentiellement d'un
35 patient présentant des symptômes caractéristiques d'un déficit dans le

transport inverse du cholestérol, et de manière tout à fait préférée chez un patient présentant les symptômes caractéristiques de la maladie de Tangier.

Selon un autre aspect, l'invention concerne donc un polypeptide
5 comprenant une séquence en acides aminés SEQ ID NO 140.

Selon encore un autre aspect, l'invention concerne un polypeptide comprenant une séquence en acides aminés SEQ ID NO 141.

L'invention est également relative à un polypeptide comprenant une séquence en acides aminés ayant au moins 80% d'identité en acides aminés
10 avec une séquence en acides aminés choisie dans le groupe constitué des peptides de séquences SEQ ID NO 140 et 141, ou un fragment peptidique de ce dernier.

Un premier fragment peptidique préféré comprendra au moins 5 acides aminés consécutifs du fragment peptidique de séquence
15 "EYSGVTSAHCNLCLLSSSDSRASASQVAGITAPATTPG" comprise dans le polypeptide ABC1 muté de séquence SEQ ID NO 140.

Un second fragment peptidique préféré comprendra au moins 5 acides aminés consécutifs du fragment peptidique de séquence
20 "RAPRRKLVSICNRCPIPVTLMTSFCG" comprise dans le polypeptide ABC1 muté de séquence SEQ ID NO 141.

Avantageusement, fait partie de l'invention un polypeptide ayant au moins 85%, 90%, 95% ou 99% d'identité en acides aminés avec une séquence en acides aminés choisie dans le groupe constitué des peptides de séquences SEQ ID NO 140 et 141, ou un fragment peptidique de ce
25 dernier.

De préférence, des polypeptides selon l'invention auront une longueur de 15, 18 ou 20 à 25, 35, 40, 50, 70, 80, 100 ou 200 acides aminés consécutifs d'un acide nucléique selon l'invention, en particulier un
30 polypeptide de séquence en acides aminés choisie parmi les séquences SEQ ID N°140 et 141.

Alternativement, un polypeptide selon l'invention consistera et/ou comprendra les fragments d'une longueur de 15, 18, 20, 25, 35, 40, 50, 100
35 ou 200 acides aminés consécutifs d'un polypeptide selon l'invention, plus

particulièrement d'un polypeptide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 140 et 141.

De manière générale, les polypeptides selon la présente invention se présentent sous une forme isolée ou purifiée.

L'invention est également relative à un procédé pour la production de l'un des polypeptides de séquences SEQ ID NO 140 et 141, ou d'un fragment peptidique ou d'un variant de ce dernier, ladite méthode comprenant les étapes de :

- a) insérer un acide nucléique codant pour ledit polypeptide dans un vecteur approprié ;
- b) cultiver, dans un milieu de culture approprié, une cellule hôte préalablement transformée ou transfecter avec le vecteur recombinant de l'étape a) ;
- c) récupérer le milieu de culture conditionné ou lyser la cellule hôte, par exemple par sonication ou par choc osmotique ;
- d) séparer et purifier à partir dudit milieu de culture ou encore à partir des lysats cellulaires obtenus à l'étape c), ledit polypeptide ;
- e) le cas échéant, caractériser le polypeptide recombinant produit.

Les peptides selon l'invention peuvent être caractérisés par fixation sur une colonne de chromatographie d'immunoaffinité sur laquelle les anticorps dirigés contre ce polypeptide ou contre un fragment ou un variant de ce dernier ont été préalablement immobilisés.

Selon un autre aspect, un polypeptide recombinant selon l'invention peut être purifié par passage sur une série appropriée de colonnes de chromatographie, selon les méthodes connues de l'homme de l'art et décrites par exemple dans F.Ausubel et al (1989).

Un polypeptide selon l'invention peut être également préparé par les techniques classiques de synthèse chimique indifféremment en solution homogène ou phase solide.

A titre illustratif, un polypeptide selon l'invention pourra être préparé par la technique ou en solution homogène décrite par Houben Weyl (1974)

ou encore la technique de synthèse en phase solide décrite par Merrifield (1965a; 1965b).

Font également partie de l'invention des polypeptides dits "homologues" à l'un quelconque des polypeptides de séquences d'acides aminés SEQ ID NO 140 et 141, ou de leurs fragments ou variants.

De tels polypeptides homologues ont des séquences d'acides aminés possédant une ou plusieurs substitutions d'un acide aminé par un acide aminé équivalent, par rapport aux polypeptides de référence.

On entendra par acide aminé équivalent selon la présente invention, par exemple remplacement d'un résidu sous la forme L par un résidu sous la forme D ou encore le remplacement d'un acide glutamique (E) par un acide pyro-glutamique selon des techniques bien connues de l'homme du métier. A titre illustratif, la synthèse de peptide contenant au moins un résidu sous la forme D est décrite par Koch (1977).

Selon un autre aspect, sont également considérés comme des acides aminés équivalents deux acides aminés appartenant à la même classe, c'est-à-dire deux acides aminés acide, basique, non polaire ou encore polaire non chargé.

Font également partis de l'invention des polypeptides comprenant au moins une liaison non peptidique telle qu'une liaison rétro-inverso (NHCO), une liaison carba (CH_2CH_2) ou encore une liaison cétométhylène ($\text{CO}-\text{CH}_2$).

De préférence, les polypeptides selon l'invention comprenant une ou plusieurs additions, délétions, substitutions d'au moins un acide aminé conserveront leur capacité à être reconnus par des anticorps dirigés contre les polypeptides non modifiés.

ANTICORPS

Les polypeptides ABC1 mutés selon l'invention, en particulier les polypeptides de séquences en acides aminés SEQ ID NO 140-141] ou les fragments de ces derniers ainsi que les peptides homologues peuvent être utilisés pour la préparation d'anticorps, notamment en vue de détecter la production de formes altérés du polypeptide ABC1 chez un patient.

Un premier anticorps préféré selon l'invention est dirigé contre un fragment peptidique comprenant au moins 5 acides aminés consécutifs du fragment peptidique de séquence

"EYSGVTSAHCNLCLLSSSDSRASASQVAGITAPATTPG" comprise dans le polypeptide ABC1 muté de séquence SEQ ID NO 140.

Un second anticorps préféré selon l'invention est dirigé contre un fragment peptidique comprenant au moins 5 acides aminés consécutifs du
5 fragment peptidique de séquence "RAPRRKLVSNRCPIPVTLMTSFCG" comprise dans le polypeptide ABC1 muté de séquence SEQ ID NO 141.

Par "anticorps" au sens de la présente invention, on entendra notamment des anticorps polyclonaux ou monoclonaux ou des fragments (par exemple les fragments F (ab)₂, Fab) ou encore tout polypeptide
10 comprenant un domaine de l'anticorps initial reconnaissant le polypeptide ou le fragment de polypeptide cible selon l'invention.

Des anticorps monoclonaux peuvent être préparés à partir d'hybridomes selon la technique décrite par Kohler et Milstein (1975).

15 La présente invention concerne également des anticorps dirigés contre un polypeptide tel que décrit ci-dessus ou un fragment ou un variant de ce dernier, tels que produits dans la technique du trioma ou encore la technique d'hybridome décrite par Kozbor et al. (1983).

20 L'invention a également trait à des fragments d'anticorps simple chaîne Fv (ScFv) tels que décrits dans le brevet US N° 4,946,778 ou encore par Martineau et al. (1998).

Les anticorps selon l'invention comprennent également des fragments d'anticorps obtenus à l'aide de banques de phages Ridder et al., (1995) ou
25 encore des anticorps humanisés Reinmann et al. (1997); Leger et al., (1997).

Les préparations d'anticorps selon l'invention sont utiles dans des tests de détection immunologiques destinés à l'identification de la présence et/ou de la quantité d'antigènes présents dans un échantillon.

30 Un anticorps selon l'invention pourra comprendre en outre un marqueur détectable isotopique ou non-isotopique, par exemple fluorescent ou encore être couplé à une molécule telle que la biotine, selon des techniques bien connues de l'homme du métier.

Ainsi, la mention a en outre pour objet un procédé pour détecter la présence d'un polypeptide conforme à l'invention dans un échantillon, ledit procédé comprenant les étapes de :

- a) mettre en contact l'échantillon à tester avec un anticorps tel que décrit ci-dessus ;
- b) détecter le complexe antigène/anticorps formé.

L'invention est également relative à un nécessaire ou kit de diagnostic ou pour la détection de la présence d'un polypeptide conforme à l'invention dans un échantillon, ledit nécessaire comprenant :

- a) un anticorps tel que défini ci-dessus ;
- b) un réactif permettant la détection des complexes antigène/anticorps formés.

COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES ET METHODES DE TRAITEMENT THERAPEUTIQUES

L'invention concerne aussi des compositions pharmaceutiques destinées à la prévention ou au traitement d'un déficit dans le métabolisme du cholestérol telle que l'athérosclérose, particulièrement dans le transport du cholestérol, et plus particulièrement encore dans le transport inverse du cholestérol, caractérisées en ce qu'elles comprennent une quantité thérapeutiquement efficace d'un polynucléotide capable de donner lieu à la production d'une quantité efficace du polypeptide ABC1 normal, en particulier du polypeptide de séquence SEQ ID NO 139.

L'invention a en outre pour objet des compositions pharmaceutiques destinées à la prévention ou au traitement d'un déficit dans le métabolisme du cholestérol telle que l'athérosclérose, particulièrement dans le transport du cholestérol, et plus particulièrement encore dans le transport inverse du cholestérol, caractérisées en ce qu'elles comprennent une quantité thérapeutiquement efficace du polypeptide ABC1 normal, en particulier du polypeptide de séquence SEQ ID NO 139.

De telles compositions pharmaceutiques seront avantageusement adaptées pour l'administration, par exemple par voie parentérale, d'une quantité du polypeptide ABC1 allant de 1 µg/kg/jour à 10 mg/kg/jour, de

préférence au moins 0,01 mg/kg/jour et de manière tout à fait préférée entre 0,01 et 1 mg/kg/jour.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent être indifféremment administrées par voie orale, rectale, parentérale, intra-veineuse, sous-cutanée ou encore intra-dermique.

L'invention concerne aussi l'utilisation du polypeptide ABC1 de séquence SEQ ID NO 139 pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de l'Athérosclérose sous diverses formes ou plus particulièrement au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.

L'invention est enfin relative à une composition pharmaceutique pour la prévention ou le traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol, comprenant une quantité thérapeutiquement efficace du polypeptide de séquence SEQ ID NO 139

Selon un autre aspect, l'invention a également pour objet une méthode de traitement thérapeutique préventive ou curative de maladies provoquées par une déficience dans le métabolisme du cholestérol, plus particulièrement dans le transport du cholestérol et encore plus particulièrement dans le transport inverse du cholestérol, une telle méthode comprenant une étape au cours de laquelle est administrée à un patient un polynucléotide capable de donner lieu à l'expression du polypeptide ABC1 chez ledit patient, ledit polynucléotide étant, le cas échéant, associé à un ou plusieurs véhicules et/ou excipients physiologiquement compatibles.

De préférence, on administrera au patient une composition pharmaceutique comprenant un polynucléotide, telle que définie ci-dessus.

Selon encore un autre aspect, l'invention a également pour objet une méthode de traitement thérapeutique préventive ou curative de maladies provoquées par une déficience dans le métabolisme du cholestérol, plus particulièrement dans le transport du cholestérol et encore plus particulièrement dans le transport inverse du cholestérol, une telle méthode comprenant une étape au cours de laquelle est administrée à un patient une quantité thérapeutiquement efficace du polypeptide ABC1 chez ledit patient,

ledit polypeptide étant, le cas échéant, associé à un ou plusieurs véhicules et/ou excipients physiologiquement compatibles.

De préférence, on administrera au patient une composition pharmaceutique comprenant un polypeptide, telle que définie ci-dessus.

5

METHODES DE CRIBLAGE D'UN COMPOSE AGONISTE OU ANTAGONISTE DU POLYPEPTIDE ABC1.

Selon un autre aspect, l'invention concerne aussi divers procédés de criblage de composés à visée thérapeutique utiles dans le traitement de
10 maladies dues à un déficit dans le métabolisme du cholestérol, particulièrement dans le transport du cholestérol, plus particulièrement encore dans le transport inverse du cholestérol, telles que la maladie de Tangier, ou plus généralement les affections de type FHD.

L'invention est donc également relative à l'utilisation du polypeptide
15 ABC1, ou de cellules exprimant le polypeptide ABC1, pour cribler des principes actifs pour la prévention ou le traitement de maladies résultant d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.

Les sites catalytiques et fragments oligopeptidiques ou immunogéniques du polypeptide ABC1 peuvent servir pour cribler des banques de produits par
20 tout une foule de techniques existantes. Le fragment utilisé dans ce type de criblage peut être libre en solution, fixé sur un support solide, à la surface cellulaire ou encore dans la cellule. La formation des complexes de liaisons entre les fragments d'ABC1 et l'agent testé peut alors être mesuré.

25 Une autre technique de criblage de produit qui peut être utilisée dans les criblages à haut flux donnant accès à des produits ayant de l'affinité pour la protéine d'intérêt est décrite dans l'application WO84/03564. Dans cette méthode, appliquée à la protéine ABC1, différents produits sont synthétisés sur une surface solide. Ces produits réagissent avec la protéine ABC1 ou
30 des fragments de celle-ci et le complexe est lavé. Les produits liant la protéine ABC1 sont ensuite détectés par des méthodologies connues de l'homme de l'art. Des anticorps non neutralisants peuvent aussi être utilisés pour capturer un peptide et l'immobiliser sur un support.

Une autre possibilité est d'utiliser un criblage de produit utilisant la compétition d'anticorps neutralisants ABC1, la protéine ABC1 et un produit potentiellement liant la protéine ABC1. De cette manière, les anticorps peuvent être utilisés pour détecter la présence de peptide ayant des motifs
5 antigéniques commun avec ABC1.

Dans les produits à évaluer et permettant d'augmenter l'activité d'ABC1, on mentionnera notamment les homologues d'ATP spécifiques des kinases impliquées dans l'activation de la molécules ainsi que des phosphatases qui
10 pourront éviter la déphosphorylation issue de ces dites kinases. On nommera notamment les inhibiteurs de du type phosphodiesterase (PDE) théophylline et 3-isobutyl-1-méthylxanthine ou les activateurs d'adénylcyclase forskoline.

15 Aussi, nous revendiquons dans cette invention l'utilisation de tout procédé de criblage de produits basé sur la méthode de translocation du cholestérol (voir l'exemple 17) entre les membranes ou vésicules, et ceci dans tous les types synthétiques ou cellulaires, c'est à dire de mammifères, d'insectes, de bactéries ou de levures exprimant de manière constitutive ou bien ayant
20 incorporés la séquence d'ABC1 humaine. A cet effet, des analogues lipidiques marqués peuvent être utilisés.

De même, il a été décrit que la protéine ABC1 permettait le transport d'anion (Becq et al. Journal of Biological Chemistry vol 272, n°5 pages 2695-2699,
25 1997 et Yamon et al. Blood vol 90, n°8 pages 2911-2915, 1997) et ce transport était activé par des inhibiteurs de phosphatase comme l'acide okadaïque et l'orthovanadate ainsi que par l'élévation de l'AMPc par des agents comme la forskoline. Nous revendiquons l'utilisation de ce système pour cribler des molécules modulant l'activité de la protéine ABC1 (voir
30 Exemple 18).

Yamon et al (Blood vol 90, n°8 pages 2911-2915, 1997) ont démontré que la protéine ABC1 de souris était impliquée dans la sécrétion d'une cytokine pro-inflammatoire IL-1 β dans des macrophages péritoneaux de souris. On
35 peut donc aussi proposer une méthode de criblage de produits modulant

l'activité de la protéine ABC1 par détermination du relargage de l'IL-1beta à partir de tout type cellulaire exprimant deux protéines (voir Exemple 19).

De plus, sachant que la disruption de nombreux transporteurs ont été décrits
5 (van, den Hazel. H., H. Pichler, V. M. M. do, E. Leitner, A. Goffeau, and G. Daum. 1999. PDR16 and PDR17, two homologous genes of *Saccharomyces cerevisiae*, affect lipid biosynthesis and resistance to multiple drugs. *J Biol Chem.* 274 (4):1934-41), on peut penser utiliser des mutants cellulaires ayant un phénotype caractéristique et compléter la fonction de ceux-ci
10 par ABC1 et utiliser l'ensemble à des fins de criblage.

L'invention est également relative à un procédé de criblage d'un composé actif sur le métabolisme du cholestérol, agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

- 15 a) préparer des vésicules membranaires contenant le polypeptide ABC1 et un substrat lipidique comprenant un marqueur détectable ;
- b) incuber les vésicules obtenues à l'étape a) avec un composé candidat agoniste ou antagoniste ;
- c) mesurer qualitativement et/ou quantitativement la libération du substrat
20 lipidique comprenant un marqueur détectable ;
- d) comparer la mesure obtenue à l'étape b) avec une mesure de la libération du substrat lipidique marqué par les vésicules n'ayant pas préalablement été incubées avec le composé candidat agoniste ou antagoniste.

25 Selon un premier aspect du procédé de criblage ci-dessus, les vésicules membranaires sont des vésicules lipidiques synthétiques, qui peuvent être préparées selon des techniques bien connues de l'homme du métier. Selon cet aspect particulier, la protéine ABC1 peut être une protéine ABC1 recombinante.

30

Selon un second aspect, les vésicules membranaires sont des vésicules de membranes plasmiques dérivées de cellules exprimant le polypeptide ABC1. Il peut s'agir de cellules exprimant naturellement le polypeptide ABC1 ou encore de cellules transfectées avec un vecteur recombinant codant pour le
35 polypeptide ABC1.

Selon un troisième aspect du procédé de criblage ci-dessus, le substrat lipidique est choisi parmi le cholestérol ou la phosphatidyl choline.

- 5 Selon un quatrième aspect, le substrat lipidique est marqué radioactivement, par exemple par un isotope choisi parmi le ^3H ou ^{125}I .

Selon un cinquième aspect, le substrat lipidique est marqué par un composé fluorescent, tel que le NBD ou le pyrène.

10

Selon un sixième aspect, les vésicules membranaires comprenant le substrat lipidique marqué et le polypeptide ABC1 sont immobilisées à la surface d'un support solide préalablement à l'étape b).

- 15 Selon un septième aspect, la mesure de la fluorescence ou de la radioactivité libérée par les vésicules est le reflet direct de l'activité de transport du substrat lipidique par le polypeptide ABC1.

20 L'invention est encore relative à un procédé de criblage d'un composé actif sur le métabolisme du cholestérol, agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

- a) obtenir des cellules, par exemple une lignée cellulaire, exprimant naturellement ou après transfection le polypeptide ABC1 ;
b) incuber les cellules de l'étape a) en présence d'anion marqué par un
25 marqueur détectable ;
c) laver les cellules de l'étape b) afin d'éliminer l'excès de l'anion marqué n'ayant pas pénétré dans ces cellules ;
d) incuber les cellules obtenues à l'étape c) avec un composé candidat agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1 ;
30 e) mesurer l'efflux de l'anion marqué ;
f) comparer la valeur de l'efflux de l'anion marqué déterminé à l'étape e) avec la valeur de l'efflux de l'anion marqué mesuré avec des cellules n'ayant pas préalablement été incubées en présence du composé candidat agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1.

35

Selon un premier aspect du procédé de criblage ci-dessus, les cellules mises en œuvre sont des cellules exprimant naturellement le polypeptide ABC1. Il peut s'agir de monocytes humains en culture primaire, purifiés à partir d'une population de cellules mononucléées du sang humain. Il peut s'agir aussi de
5 lignées de cellules monocytaires humaines, telles que la lignée leucémique monocyttaire THP1.

Selon un second aspect, les cellules mises en œuvre dans le procédé de criblage décrit ci-dessus peuvent être des cellules n'exprimant pas
10 naturellement, ou alternativement exprimant à un faible niveau, le polypeptide ABC1, lesdites cellules étant transfectées avec un vecteur recombinant selon l'invention capable de diriger l'expression du polypeptide ABC1

15 Selon un troisième aspect, les cellules peuvent être des cellules ayant un déficit naturel dans le transport anionique, ou encore des cellules pré-traitées avec un ou plusieurs inhibiteurs des canaux anioniques, tels que le Verapamil™ ou le tétra éthylammonium.

20 Selon un quatrième aspect dudit procédé de criblage, l'anion est un iodure marqué radioactivement, tels que les sels $K^{125}I$ ou $Na^{125}I$.

Selon un cinquième aspect, la mesure de l'efflux de l'anion marqué est déterminé périodiquement au cours du temps pendant l'expérience,
25 permettant ainsi d'établir aussi une mesure cinétique de cet efflux.

Selon un sixième aspect, la valeur de l'efflux de l'anion marqué est déterminée par la mesure de la quantité de l'anion marqué présent à un temps donné dans le surnageant de culture cellulaire.

30 Selon un septième aspect, la valeur de l'efflux de l'anion marqué est déterminée comme la proportion de radioactivité retrouvée dans le surnageant de culture cellulaire par rapport à la radioactivité totale correspondant à la somme de la radioactivité retrouvée dans les lysats

cellulaires et de la radioactivité retrouvée dans le surnageant de culture cellulaire.

L'invention a encore pour objet un procédé de criblage d'un composé actif
5 sur le métabolisme du cholestérol, agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

- a) cultiver des cellules d'une lignée monocyttaire humaine dans un milieu de culture approprié, en présence d'albumine humaine purifiée ;
- b) incuber les cellules de l'étape a) simultanément en présence d'un
10 composé stimulant la production d'IL-1 beta et du composé candidat agoniste ou antagoniste;
- c) incuber les cellules obtenues à l'étape b) en présence d'une concentration appropriée d'ATP ;
- d) mesurer d'IL-1 beta libérée dans le surnageant de culture cellulaire.
- 15 e) comparer la valeur de la libération de l'IL-1 beta obtenue à l'étape d) à la valeur de l'IL-1 beta libérée dans le surnageant de culture de cellules n'ayant pas été préalablement incubées en présence du composé candidat agoniste ou antagoniste.

- 20 Selon un premier aspect du procédé de criblage décrit ci-dessus, les cellules utilisées appartiennent à la lignée monocyttaire leucémique humaine THP1.

Selon un second aspect du procédé criblage, le composé stimulant la production d'IL-1 beta est un lipopolysaccharide.

25

Selon un troisième aspect dudit procédé, on détermine également qualitativement et/ou quantitativement la production d'IL-1 alpha, de IL-6 et de TNF alpha par ces cellules.

- 30 Selon un quatrième aspect, le niveau d'expression de l'ARN messager codant pour l'IL-1 beta est également déterminé.

L'invention est illustrée, sans pour autant être limitée, par les figures et les exemples suivants :

La **Figure 1** illustre la ségrégation de la mutation par insertion d'une séquence Alu dans l'exon 12 du gène ABC1. L'insertion-délétion dans l'exon 12 du gène ABC1 consiste en une délétion de 14 nucléotides et d'une insertion de 110 nucléotides comme représenté sur la figure 1A. La figure 1B
5 représente le pédigré Nu et la taille des fragments d'ADN obtenus pour chacun des patients après amplification par PCR de l'exon 12. La piste M correspond aux marqueurs de mobilité (Gibco BRL) . La piste C correspond à un ADN témoin.

10 La **Figure 2** illustre la mutation par délétion d'un seul nucléotide dans l'exon 13 du gène ABC1. La séquence du brin complémentaire a été obtenue et est représentée de 3' vers 5'. La séquence codant pour les acides aminés 546 à 552 du polypeptide ABC1 est représentée pour différents patients de la famille étudiée, respectivement pour un individu homozygote (**Figure 2-a**),
15 hétérozygote (**Figure 2-b**) et non affecté (**Figure 2-c**). La séquence de la **Figure 2-a** a été retrouvée chez trois individus homozygotes, la séquence de la **Figure 2-b** a été retrouvée chez cinq individus hétérozygotes et la séquence de la **Figure 2-c** a été retrouvée chez quatre individus non affectés.

20

EXEMPLES

EXEMPLE 1: Distribution tissulaire des transcrits du gène ABC1 selon l'invention

25 Le profil d'expression des polynucleotides selon la présente invention est déterminé selon les protocoles d'analyse de Northern blot et de transcription inverse couplée à la PCR décrits notamment par Sambrook et al (ref. CSH Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (1989). "Molecular Cloning : A Laboratory Manual," 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold
30 Spring Harbor, NY.).

Par exemple, dans le cas d'une analyse par transcription inverse, un couple d'amorces synthétisées à partir de l'ADN complet du gène humain ABC1 de séquence SEQ ID NO 91 est utilisé pour détecter l'ADNc
35 correspondant.

La réaction de polymérase en chaîne (PCR) est réalisée sur des matrices d'ADNc correspondant à des ARNm polyA⁺ (Clontech) rétrotranscrits. La transcription inverse en ADNc est réalisée avec l'enzyme SUPERSRIPT II
5 (GibcoBRL, Life Technologies) selon les conditions décrites par le fabricant.

La réaction de polymérase en chaîne est réalisée selon des conditions standard, dans 20 µl de mélange réactionnel avec 25 ng de la préparation d'ADNc. Le mélange réactionnel est composé de 400 µM de chacun des dNTP, de 2 unités de *Thermus aquaticus* (Taq) ADN polymérase (Ampli Taq
10 Gold ; Perkin Elmer), de 0,5 µM de chaque amorce, de 2,5 mM MgCl₂, et de tampon PCR. Trente quatre cycles de PCR (dénaturation 30 s à 94 °C, hybridation de 30 s décomposé comme suit lors des 34 cycles : 64°C 2 cycles, 61°C 2 cycles, 58°C 2 cycles et 55°C 28 cycles et une élongation d'une minute par kilobase à 72°C) sont réalisés après une première étape
15 de dénaturation à 94°C durant 10 min dans un thermocycler Perkin Elmer 9700. Les réactions de PCR sont visualisées sur gel d'agarose par électrophorèse. Les fragments d'ADNc obtenus peuvent être utilisés comme sondes pour une analyse par Northern blot et peuvent également être utilisés pour la détermination exacte de la séquence polynucléotidique.

20

Dans le cas d'une analyse par Northern Blot, une sonde d'ADNc produite comme décrit ci-dessus est marquée au ³²P grâce au système de marquage d'ADN High Prime (Boehringer) selon les instructions indiquées par le fabricant. Après marquage, la sonde est purifiée sur une microcolonne
25 de Sephadex G50 (Pharmacia) selon les instructions indiquées par le fabricant. La sonde marquée et purifiée est alors utilisée pour la détection de l'expression des ARNm dans différents tissus.

Le Northern blot contenant des échantillons d'ARN de différents tissus humains ((Multiple Tissue Northern , MTN, Clontech) Blot 2, référence
30 77759-1) est hybridé avec la sonde marquée.

Le protocole suivi pour les hybridations et lavages peut être soit directement celui décrit par le fabricant (Manuel d'utilisation PT1200-1) soit une adaptation de ce protocole en utilisant les méthodes connues de l'homme de l'art et décrites par exemple dans F.Ausubel et al (1999). On

pourra ainsi faire varier par exemple les températures de préhybridation et d'hybridation en présence de formamide.

Par exemple on pourra utiliser le protocole suivant :

1- Compétition des membranes et PRE HYBRIDATION :

5

- Mélanger : 40µl ADN sperme de saumon (10mg/ml)
+ 40 µl ADN placentaire humain (10mg/ml)

- Dénaturer 5 mn à 96°C, puis plonger dans la glace le mélange.

10

- Oter le SSC 2X et verser 4 ml de mix formamide dans le tube d'hybridation contenant les membranes.

- Ajouter le mélange des deux ADN dénaturés.

15

- Incubation à 42°C pendant 5 à 6 heures, avec rotation.

2- Compétition de la sonde marquée :

- 20 - Ajouter à la sonde marquée et purifiée 10 à 50 µl ADN Cot I, selon la quantité de séquences répétées.

- Dénaturer 7 à 10 mn à 95°C.

- 25 - Incuber à 65°C pendant 2 à 5 heures.

3- HYBRIDATION :

- Oter le mix de pré-hybridation.

30

- Mélanger 40 µl ADN sperme de saumon + 40 µl ADN placentaire humain ;
dénaturer 5 mn à 96°C, puis plonger dans la glace.

- Ajouter dans le tube d'hybridation 4 ml de mix formamide, le mélange des
35 deux ADN et la sonde marquée/ADN Cot I dénaturée.

- Incuber 15 à 20 heures à 42°C, avec rotation.

4- Lavages :

5

- Un lavage à température ambiante dans du SSC 2X, pour rincer.
- 2 fois 5 minutes à température ambiante SSC 2X et SDS 0,1% à 65°C.
- 2 fois 15 minutes à 65°C SSC 1X et SDS 0,1% à 65°C.

10

Après hybridation et lavage, le blot est analysé après une nuit d'exposition au contact d'un écran au phosphore révélé à l'aide du Storm (Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA).

15 **EXEMPLE 2 : Obtention de l'ADNc complet du gène ABC1**

La séquence de la région 3'-UTR de l'ADNc du gène ABC1 humain a été identifiée par recherche dans les bases de données.

Un criblage itératif d'une base de données de séquences EST ("Genbank mouse human subdivision EST, v.111") a été réalisé à l'aide du logiciel
20 BLAST.

Des amorces oligonucléotidiques ont été synthétisées à partir de la séquence consensus partielle dérivée des séquences EST, afin d'amplifier par une réaction de RT-PCR l'extrémité 3' de l'ADNc du gène ABC1 humain, puis d'en déterminer la séquence.

25

Les amorces oligonucléotidiques utilisées sont les suivantes :

1. 5'- AAACCAGACAGTAGTGGACG-3', (SEQ ID NO 142)
2. 5'-GTTACTGCCACCAGAACAGC-3', (SEQ ID NO 143)
3. 5'- TGATAAGCTGTTCTGGTGGC-3',(SEQ ID NO 144)
4. 5'-CTTGGCTTTTGCATTGTTGC-3', (SEQ ID NO 145)
- 30 5. 5'- CAATGCAAAAGCCAAGAAAG-3',(SEQ ID NO 146)
6. 5'-TGCAACGATGCCATATCAC-3', (SEQ ID NO 147)
7. 5'-CAACTCCTTACTTCGGTTCCTC-3',(SEQ ID NO 148)
8. 5'-GTTTTCTGAGGTGTCCCAAAG-3'(SEQ ID NO 149)

La transcription inverse de l'ARNm poly(A)+ à partir de tissus de
35 cerveau, de cerveau fœtal, de cœur, d'utérus et de placenta (Banques

commercialisées par la société Clontech) a été réalisé par élongation à l'aide d'amorces oligodT en utilisant le kit Superscript™ (commercialisé par la société Life Technologies Inc.), selon les instructions du fabricant.

Dans chaque expérience, on a pu exclure la présence d'ADN contaminant du fait de l'absence de polynucléotides amplifiés par PCR dans les échantillons ne contenant pas de transcriptase inverse.

Une réaction PCR a été effectuée sur les produits ayant subi ou non une première étape de transcription inverse dans les conditions suivantes :

- 400 µM dNTP, 2 Unités d'ADN polymérase Taq (*Thermus aquaticus*, Ampli Taq Gold, commercialisée par la société Perkin Elmer), 0,5 µM de chacune des amorces, 2,5 mM de Mg Cl₂, l'ensemble étant présent dans un tampon pour PCR contenant également 50 ng d'ADN ou environ 25 ng d'ADNc.
- La réaction PCR a été effectuée pendant 30 cycles dans un appareil thermocycleur ("Perkin Elmer 9700 Thermal Cycler") dans des micro-plaques de 96 puits.
- Après une dénaturation initiale à 94°C pendant 10 minutes, chaque cycle a été réalisé de la manière suivante :
 - étape de dénaturation à 94°C pendant 30 secondes; étape d'hybridation pendant 30 secondes (à 64°C pendant 2 cycles, à 61°C pendant 2 cycles, à 58°C pendant 2 cycles et à 55°C pendant 28 cycles).
 - étape d'élongation pendant un temps correspondant à 1 minute par kilobase.
- La réaction PCR est arrêtée par une étape finale d'extension de 7 minutes.

Différentes autres approches peuvent être utilisées pour isoler l'ADNc correspondant à l'ADNc complet de ABC1.

Par exemple un clone complet peut être directement isolé par hybridation en criblant une banque d'ADNc au moyen d'une sonde polynucléotidique spécifique de la séquence du gène d'intérêt.

En particulier une sonde spécifique de 30-40 nucléotides est synthétisée en utilisant un synthétiseur de marque Applied Biosystem/Perkin Elmer selon la séquence choisie.

L'oligonucléotide obtenu est radiomarké, par exemple au ³²P-γ- ATP en utilisant la T4 polynucléotide kinase et est purifié selon les méthodes usuelles (e.g. Maniatis et al. Molecular cloning : A Laboratory Manual, Cold

Spring Harbor Press, Cold Spring, NY 1982 ou encore F.Ausubel et al .
(Current Protocols in Molecular Biology, J.Wiley and Sons Eds, 1989).

La banque de clones contenant l'ADNc que l'on veut cribler est étalée sur
5 milieu de culture en boîte de Pétri (1.5% agar) contenant les antibiotiques
appropriés selon les méthodes usuelles citées ci dessus (F.Ausubel et al.).
Les colonies ainsi produites après incubation sont transférées sur filtres de
nitrocellulose et criblées au moyen de la sonde nucléotidique radiomarquée,
selon les méthodes usuelles et les colonies hybridant avec la sonde sont
10 isolées et sous clonées.

L'ADN des clones ainsi repéré est préparé et analysé par séquençage. Les
clones contenant les fragments correspondant à l'ADNc complet sont
purifiés et recloneés dans le vecteur pcDNA3 selon les protocoles connus de
15 l'homme de l'art et présentés par exemple dans F. Ausubel et al (1989) .

Différentes méthodes sont connues pour identifier les extrémités 5' et 3' du
cDNA correspondant aux gènes décrits dans la présente demande. Ces
méthodes incluent mais ne se limitent pas au clonage par hybridation, au
20 clonage utilisant des protocoles similaires ou identiques à la 3' ou 5' RACE-
PCR (Rapid Amplification of cDNA End-PCR) qui sont bien connues de
l'homme de l'art.

Par exemple, on pourra utiliser le kit commercialisé par la société Clontech
25 (Marathon Ready™ cDNA kit , protocole référencé PT1156-1) ou
alternativement une méthode similaire à la 5'RACE est disponible pour
caractériser l'extrémité 5' manquante d'un cDNA (Fromont-Racine et al.
Nucleic Acid Res.21(7) :1683-1684 (1993)). En bref, un oligonucléotide
d'ARN est ligaturé à l'extrémité 5' d'une population d'ARNm. Après
30 retrotranscription en cDNA, un jeu d'amorces spécifiques respectivement de
l'adaptateur ligaturé en 5' et d'une séquence située en 3' du gène d'intérêt
est utilisé en PCR pour amplifier la portion 5' du cDNA recherché. Le
fragment amplifié est ensuite utilisé pour reconstruire l'ADNc complet.

EXEMPLE 3 : Analyse du profil d'expression génique pour la maladie de Tangier

La vérification de l'altération du niveau d'expression du gène ABC1 entraînant le phénotype cellulaire de Tangier peut-être déterminé par hydridation de ces séquences avec des sondes correspondant aux ARNm provenant de fibroblastes de sujets atteints ou non de la maladie, selon les méthodes décrites ci-dessous :

10 1. Préparation des ARN totaux, des ARNm poly(A)⁺ et de sondes de cDNA

Les ARN totaux sont obtenus à partir de cultures cellulaires des fibroblastes de sujets normaux ou bien atteints de la maladie de Tangier par la méthode à l'isothiocyanate de guanidine(Chomczynski & Sacchi, 1987). Les ARNm poly(A)⁺ sont obtenus par chromatographie d'affinité sur colonnes d'oligo(dT)-cellulose (Sambrook et al., 1989) et les cDNA utilisés comme sondes sont obtenus par RT-PCR (DeRisi et al., 1997) avec des oligonucléotides marqués avec un produit fluorescent (Amersham Pharmacia Biotech ; CyDyeTM).

20 2. Hydridation et détection des niveaux d'expressions

Les membranes de verre contenant les séquences présentées dans cette demande de brevet, correspondant au gène Tangier sont hybridées avec les sondes de cDNA, obtenues à partir des fibroblastes (Iyer et al., 1999). L'utilisation du système Amersham/molecular Dynamics (Avalanche MicroscannerTM) permet la quantification des expressions des produits de séquences sur le type cellulaire sain ou affecté.

EXEMPLE 4 : Construction du vecteur d'expression contenant l'ADNc complet de ABC1 dans des cellules de mammifères

30

Le gène ABC1 peut être exprimé dans des cellules de mammifères. Un vecteur d'expression eucaryote typique contient un promoteur qui permet l'initiation de la transcription de l'ARNm, une séquence codant pour la protéine, et les signaux requis pour la terminaison de la transcription et pour la polyadénylation du transcrit. Il contient aussi des signaux supplémentaires

35

l'animal dans le but de produire des antisera polyclonaux de plus grande activité.

Dans la méthode préférée, les anticorps de la présente invention sont des anticorps monoclonaux. De tels anticorps monoclonaux peuvent être
5 préparés en utilisant la technique d'hybridome. (Köhler et al, Nature 256 :495 (1975) ; Köhler et al, Eur. J. Immunol. 6 :511 (1976) ; Köhler et al, Eur. J. Immunol. 6:292 (1976) ; Hammeling et al., in : Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, Elsevier, N.Y., pp. 563-681 51981). En général, de telles méthodes impliquent d'immuniser l'animal (préférentiellement une souris)
10 avec un polypeptide ou, mieux encore, avec une cellule exprimant le polypeptide. Ces cellules peuvent être mises en culture dans un milieu de culture tissulaire adéquat. Cependant, il est préférable de cultiver les cellules dans un milieu Eagle (Earle modifié) supplémenté avec 10% de serum bovin foetal (inactivé à 56°C) et additionné d'environ 10 g/l d'acides aminés non
15 essentiels, de 1000 U/ml de pénicilline et d'environ 100 µg/ml de streptomycine.

Les splénocytes de ces souris sont extraits et fusionnés avec une lignée cellulaire de myelome adéquate. Cependant, il est préférable d'utiliser la lignée cellulaire de myelome parentale (SP2O) disponible à l'ATCC. Après
20 fusion, les cellules d'hybridomes résultantes sont sélectivement maintenues en milieu HAT puis clonées par dilution limite comme décrit par Wands et al. (Gastroentérolgy 80:225-232 (1981)). Les cellules d'hybridomes obtenues après une telle sélection sont testées afin d'identifier les clones sécrétant des anticorps capables de se fixer au polypeptide.

25 D'autre part, d'autres anticorps capables de se fixer au polypeptide peuvent être produits selon une procédure en 2 étapes utilisant des anticorps anti-idiotypique une telle méthode est fondée sur le fait que les anticorps sont eux-mêmes des antigènes et en conséquence il est possible d'obtenir un anticorps reconnaissant un autre anticorps. Selon cette
30 méthode, les anticorps spécifiques de la protéine sont utilisés pour immuniser un animal, préférentiellement une souris. Les splénocytes de cet animal sont ensuite utilisés pour produire des cellules hybridomes, et ces dernières sont criblées pour identifier les clones qui produisent un anticorps dont la capacité à se fixer au complexe protéine-anticorps spécifique peut-
35 être bloqué par le polypeptide. Ces anticorps peuvent être utilisés pour

immuniser un animal afin d'induire la formation en plus grande quantité d'anticorps spécifiques de la protéine.

Il serait apprécié que Fab et F(ab')₂ et les autres fragments des anticorps de la présente invention puissent être utilisés selon les méthodes décrites ici. De tels fragments sont typiquement produits par clivage protéolytique à l'aide d'enzymes telles que la Papaïne (pour produire les fragments Fab) ou la Pepsine (pour produire les fragments F(ab')₂). Sinon, les fragments sécrétés reconnaissant la protéine peuvent être produits en appliquant la technologie de l'ADN recombinant ou de la chimie de synthèse.

10 Pour l'utilisation in vivo d'anticorps chez l'homme il serait préférable d'utiliser des anticorps monoclonaux chimériques "humanisés". De tels anticorps peuvent être produits en utilisant des constructions génétiques dérivés de cellules d'hybridomes produisant les anticorps monoclonaux décrits ci-dessus. Les méthodes pour produire les anticorps chimériques
15 sont connus par l'homme de l'art. (Pour revue, voir : Morrison, Science 229 :1202 (1985) ; Oi et al., Biotechnique 4 :214 (1986) ; Cabilly et al., US patent n°4,816,567 ; Taniguchi et al., EP 171496 ; Morrison et al., EP 173494 ; Neuberger et al., WO 8601533 ; Robinson et al., WO 8702671 ; Boulianne et al ; Nature 312 :643 (1984) ; Neuberger et al., Nature 314 : 268
20 (1985)).

EXEMPLE 7 : Correction du phénotype cellulaire de la maladie de Tangier

25

La maladie de Tangier est caractérisée par un catabolisme accéléré des particules lipoprotéiques de haute densité (HDL) et une accumulation de cholestérol dans les tissus. Notamment, les fibroblastes de peau des patients atteints de la maladie de Tangier ont une capacité réduite à éliminer
30 leur contenu en cholestérol par le processus d'efflux de cholestérol assuré par l'apolipoprotéine A-I (apoA-I), protéine majeure des HDL (Francis et al., 1995). Cette caractéristique correspondant à une perte de fonction est aussi retrouvée dans d'autres cellules fibroblastiques de patients atteints de déficit familial en HDL (Marcil et al., 1999).

35

La correction du phénotype des fibroblastes de Tangier peut être assurée par la transfection de l'ADNc complet de ABC1 selon l'invention, dans lesdites cellules. L'ADNc est inséré dans un vecteur d'expression qui est ensuite transfecté selon les méthodes décrites ci-dessous :

5

1. Préparation des cultures fibroblastiques de sujets normaux et de sujets atteints de la maladie de Tangier

Les fibroblastes primaires de peau humaine sont obtenus par la mise en culture de biopsie de peau provenant de l'avant bras. Ces biopsies sont effectuées sur des patients atteints de la maladie de Tangier ayant les particularités cliniques et biochimiques des " homozygotes ", c'est à dire des amygdales oranges, des concentrations plasmatiques d'apoA-I et de cholestérol-HDL inférieur au 5^{ème} percentile. Les lignées de fibroblastes normaux sont obtenus chez l'American Type Culture Collection (Rockville, MD). Les fibroblastes sont cultivés dans un milieu EMMEM (Eagle-modified minimum essential medium ; GIBCO) complété par 10% de sérum de veau foetal, de la glutamine à 2 mM, 100 UI/ml de pénicilline et 100 µg/ml de streptomycine (milieu désigné par EMMEM10). En vue de la réalisation de l'étude de l'efflux de cholestérol, ces cellules sont pré-chargées en cholestérol par incubation de 24 heures avec 50µg/ml de cholestérol dans le milieu décrit ci-dessus sans sérum de veau mais contenant 2 mg/ml d'albumine bovine (BSA, fraction V).

2. Etude de l'efflux de cholestérol

Les fibroblastes pré-chargés en cholestérol à confluence sur des plaques à 24 puits sont incubés dans le milieu EMMEM10 et 1 µCi/ml de 1,2-³H-cholestérol (50 Ci/mmol ; Dupont ; Wilmington, DE) durant 48 heures. Environ 100 000 coups par minute sont obtenus par puits ou 1000 coups par minute et par µg de protéine cellulaire. Les cellules sont lavées trois fois avec du milieu EMMEM/BSA, et incubées avec ce milieu durant 24 heures avant de transfecter le gène d'intérêt et de démarrer l'efflux par ajout de 10 µg/ml de protéoliposome contenant l'apoA-I en milieu EMMEM/BSA. Ces protéoliposomes sont préparés par sonication de phosphatidylcholine et d'apoA-I humaine purifiée (Jonas, 1986). La transfection cellulaire s'effectue par la technique de précipitation de phosphate de calcium (Sambrook et al.,

1989). Après la période d'efflux, en général 20 heures, le milieu est collecté, centrifugé (1000 g, 5 min), et la radioactivité déterminée par comptage en scintillation liquide. La radioactivité résiduelle dans les cellules est aussi déterminée sur la nuit après extraction des lipides dans l'isopropanol. Le
5 pourcentage d'efflux est calculé en divisant la radioactivité mesurée dans le surnageant par la somme des radioactivités mesurées, dans le surnageant et l'extrait cellulaire. Un contrôle interne est réalisé par transfection d'un gène marqueur et l'incubation sur 24 heures avec un milieu EMMEM/BSA sans protéoliposome contenant l'apoA-I. L'efflux de cholestérol cellulaire à partir
10 de fibroblastes normaux et transfectés par un gène témoin correspondent à $6 \pm 2\%$ alors que celui obtenu à partir de fibroblastes atteints de la maladie de Tangier et transfectés par ce gène témoin est inférieur à 1%. En revanche la transfection des fibroblastes atteints de la maladie de Tangier par un plasmide contenant l'ADNc complet ou encore l'ADN génomique de ABC1
15 selon l'invention permettrait de restaurer la capacité de ces cellules à éliminer leur excès de cholestérol à un niveau correspondant à celui de fibroblastes normaux.

EXEMPLE 8 : Isolement et caractérisation de fragments génomiques du
20 **gène ABC1 humain.**

Un fragment d'environ 3 kb de l'ADNc de ABC1 humain a été obtenu à partir du clone d'ADNc désigné "pf10" contenant le premier domaine de fixation de l'ATP de ABC1, ce clone d'ADNc étant décrit dans l'article de
25 Luciani et al. (1994).

Ce fragment d'ADNc obtenu par digestion du clone pf10 à l'aide de l'endonucléase de restriction EcoRI, a été isolé sur un gel d'agarose après électrophorèse, puis marqué avec la digoxigénine selon les instructions du constructeur (kit commercialisé par Boehringer Mannheim, référence 1 585
30 614)

Le fragment d'ADNc marqué a été utilisé afin de cribler la banque de cosmides LLNL (Lawrence Livermore National Labs) du chromosome 9, immobilisés sur un filtre de NylonTM.

Six clones positifs ont été identifiés. Pour ces six cosmides, la sonde
35 a hybridé avec des colonies uniques.

Un clone représentatif a été isolé à partir de chacune de ces colonies.

Les clones LLNLC 131J087 Q2 (désignés ici cos3a) et LLNLC 131O1165 Q2 (désignés ici cos6f) ont été analysés plus en détail.

Le clone cos3a a été sous-cloné sous la forme d'un fragment EcoRI
5 dans le vecteur Gen3zf(-) et séquencé aux deux extrémités en utilisant la technologie Big Dye Terminator sur un séquenceur de type ABI377 (Applied Biosystems, Perkin Elmer).

Les clones contenant des inserts distincts (déterminés après
séquençage des extrémités des différents inserts ou encore par
10 détermination de la taille de ceux-ci) qui étaient de longueur trop grande pour être complètement séquencés à l'aide des amorces hybridant avec les séquences du vecteur, ont été analysés plus avant par la technique d'insertion de transposon puis de séquençage à l'aide d'amorces spécifiques du transposon (système " GPS " commercialisé par la Société New England
15 Biolabs).

De cette manière, des séquences génomiques correspondant au gène ABC1 humain ont été isolées et caractérisées. Ces séquences ont été comparées avec des séquences humaines et de souris référencées dans les bases de données permettant de déterminer les jonction intron-exon..

20

EXEMPLE 9 : Détermination de polymorphismes/mutations dans le gène ABC1.

La détection de polymorphismes et ou de mutations dans les séquences des transcrits ou dans la séquence génomique du gène ABC1 peut être réalisée
25 selon différents protocoles. La méthode de choix est le séquençage direct.

Pour les patients dont on peut obtenir une préparation d'ARNm la méthode de choix consiste à préparer les cDNAs et les séquencer directement, Pour les patients dont on ne dispose que de l'ADN, et dans le cas d'un transcrit où
30 la structure du gène correspondant est inconnue ou partiellement connue il est nécessaire de déterminer précisément sa structure intron-exon ainsi que la séquence génomique du gène correspondant. Il s'agit donc dans un premier temps d'isoler le ou les clones de cosmides ou de BAC d'ADN génomique correspondant au transcrit étudié selon la méthode décrite dans
35 l'exemple 8, de séquencer l'insert du ou des clones correspondants et de

déterminer la structure intron-exon en comparant la séquence de l'ADNc à celle de l'ADN génomique obtenu.

La technique de détection de mutations par séquençage direct consiste à comparer les séquences génomiques du gène ABC1 obtenues à partir des
5 homozygotes pour la maladie ou d'au moins 8 individus (4 individus affectés par la pathologie étudiée et 4 individus non affectés). Les divergences de séquence constituent des polymorphismes. Tous ceux modifiant la séquence en acides aminés de la protéine sauvage peuvent être des mutations susceptibles d'affecter la fonction de ladite protéine qu'il est intéressant de
10 considérer plus particulièrement pour l'étude de co-ségrégation de la mutation et de la maladie (corrélation génotype-phénotype) dans le pédigrée ou encore dans les études d'association cas/témoin pour l'analyse des cas sporadiques.

15 **EXEMPLE 10 : Identification d'un gène causal d'une maladie liée à un déficit du transport inverse du cholestérol par la mutation causale ou une différence transcriptionnelle**

Parmi les mutations identifiées selon la méthode décrite dans l'Exemple 9, toutes celles associées au phénotype malade sont susceptibles d'être
20 causales. La validation de ces résultats est faite en séquençant le gène chez tous les individus atteints et leurs apparentés (dont l'ADN est disponible).

D'autre part, la réalisation de Northern blot ou RT-PCR, selon la méthode décrite dans l'Exemple 1, à partir d'ARN spécifique d'individus atteints et non-atteints permet de détecter des variations notables du niveau
25 d'expression du gène étudié, en particulier une absence de transcription du gène.

EXEMPLE 11 : Identification d'une délétion d'un nucléotide dans l'exon 13 du gène ABC1 chez des patients atteints de la maladie de TANGIER

30 L'analyse de mutations dans le gène ABC1 a été réalisée sur de l'ADN génomique de plusieurs individus appartenant à une famille dont plusieurs membres sont atteints de la maladie de Tangier avec des désordres coronariens précoces.

Une délétion d'un nucléotide a été identifiée dans l'exon 13 (DG
35 1764 : Leu548Leu ;575 End). Cette délétion introduit un codon stop en

position 575 qui permet de prédire une troncation de la protéine ABC1 codée par le gène ABC1 muté, cette troncation conduisant à la synthèse d'un polypeptide délété d'une grande partie de la séquence normale d'acides aminés, et en particulier des deux cassettes de fixation à l'ATP.

- 5 Une corrélation parfaite entre l'observation des symptômes de la maladie et la présence de cette délétion d'un nucléotide a été retrouvée dans l'ensemble de la famille (Figure 1).

EXEMPLE 12 : Identification d'une insertion d'un segment de
10 **nucléotides dans l'exon 12 du gène ABC1.**

Dans une autre famille dont plusieurs membres sont atteints de la maladie de Tangier, on a observé une insertion de 110 paires de bases ayant la structure d'une séquence nucléotidique répétée de type Alu-sq, accompagnée d'une délétion de 14 paires de bases dans l'exon 12 (Figure
15 2). Cette mutation par insertion/délétion permet de prédire une délétion de 65 acides aminés (DERKFW) ainsi qu'une insertion en phase de 38 acides aminés (EYSGVTSAHCNLCLLSSSDSRASASQVAGITAPATTPG).

Cette mutation ne permet pas la synthèse d'un polypeptide transporteur ABC1 normal. Il peut donc être conclu que la maladie de
20 Tangier, chez les individus de cette famille, est provoquée par un défaut dans le gène ABC1.

EXEMPLE 13. : Identification de polymorphismes bialléliques dans le
gène ABC1

25 Des amorces pour l'amplification de l'ADN des patients ont été conçues à partir des séquences non répétitives de l'ADN intronique du gène ABC1, de telle manière à ce qu'une amplification des jonctions intron-exon ainsi que des bases essentielles pour la formation de la structure secondaire durant l'étape d'épissage de l'ARN soit incluses dans les fragments
30 amplifiés.

Les différents couples d'amorces spécifiquement mis au point sont présentés dans le tableau V.

Les résultats trouvés sur l'ADN d'une famille contenant des cas de maladie de Tangier sans complication coronariennes sont montrés dans le tableau
35 IV.

L'ADN génomique des patients a été amplifié à l'aide des amorces décrites ci-dessus en utilisant le kit Qiagen's Star Taq ou encore le kit Supertaq, en utilisant les conditions d'hybridation et des conditions de cycle d'amplification préconisées par le constructeur.

- 5 Les produits PCR amplifiés ont été purifiés en utilisant un kit commercialisé par la Société Qiagen, puis séquencés par la méthode Big Dye Terminator sur un séquenceur ABI377 (Applied Biosystems, Perkin Elmer).

10 **EXEMPLE 14 : Identification d'une région de 1 cM sur le locus 9q31 associée à la maladie de Tangier**

Une première analyse de liaison ("linkage") a été décrite dans l'article de Rust et al. (1998).

- 15 Cet article a présenté une analyse de liaison sur trois familles de patients atteints de la maladie de Tangier et défini un intervalle candidat de 8 cM en 9q31.

- Le demandeur a réalisé une étude de liaison en incluant quatre familles supplémentaires ainsi que des marqueurs additionnels référencés dans des bases de données publiques afin d'affiner la région candidate à environ 1 cM, en référence à la carte génétique publiée par le Généthron (Dib et al., 1996)

- 20 Les résultats d'analyse de liaison présentés ci-après ont permis au demandeur d'exclure de la région candidate les segments génomiques respectivement proximaux (centromérique) et distaux (télomérique) aux marqueurs D9S271 et D9S1866.

La région candidate est donc localisée entre ces deux marqueurs exclus.

- 30 Une information importante ayant permis d'affiner la région candidate a été obtenue à partir de la portion E1 du pedigree décrit dans l'article de Rust et al. (1998). En effet il a été montré sur le chromosome maternel, à l'origine de la partie E121m, que l'événement de recombinaison (crossing-over) déjà décrit dans la figure 2 de cet article (entre les marqueurs D9S277 et D9S53), devait en fait être localisé de façon télomérique par rapport au

marqueur D9S271. La borne centromérique de l'intervalle candidat étant située entre D9S271 et D9S277.

Dans deux des nouvelles familles, respectivement la famille " S1 " et la famille " NU ", des événements de recombinaison supplémentaires ont été observés. Ces événements de recombinaison ont permis de déplacer la borne télomérique de l'intervalle candidat, du marqueur D9S1677 (décrit dans l'article de Rust et al 1998) au marqueur D9S1866.

Le premier pedigree, " S1 ", a été étendu. Les individus atteints présentent un génotype homozygote pour tous les marqueurs de la région de 8cM ainsi que pour des marqueurs plus lointains, localisés de part et d'autre de cette région. L'un des cousins de l'individu S1, apparenté à S1 par les deux parents (double consanguinité) possède quatre enfants. Deux de ces enfants présentent sur leur chromosome d'origine paternel une conservation d'une grande partie de l'haplotype malade (dans la région défini de 8 cM). Ces deux enfants présentent également la caractéristique typique des parents hétérozygotes de la famille atteinte de la maladie de Tangier, à savoir un niveau de HDL qui est de moitié le niveau observé chez des patients non affectés par la maladie.

Cependant, le caractère homozygote pour les marqueurs n'est plus observé dans la région chromosomique à partir du marqueur D9S1866 (qui est hétérozygote chez ces individus), ce qui a permis de définir D9S1866 comme borne télomérique de la région candidate.

La même borne télomérique a été observée dans la famille " Nu ", dans laquelle l'un des quatre enfants issus de parents cousins au premier degré, était un patient affecté de la maladie de Tangier homozygote.

Une homozygotie pour les marqueurs sur l'ensemble de la région candidate a été observée chez ce patient.

L'un de ses frères, hétérozygote (au niveau phénotypique), présente un événement de recombinaison (crossing-over) sur l'un des deux chromosomes, de telle manière que ce frère est homozygote (au niveau génétique) pour tous les marqueurs télomériques incluant le marqueur D9S1866, mais hétérozygote (au niveau génétique) pour les marqueurs localisés dans la région vers le centromère.

Comme ce patient ne présentait pas un phénotype de patient homozygote, la région télomérique incluant le marqueur D9S1866 a pu être exclue.

5 EXEMPLE 15: Isolement et caractérisation du gène ABC1 humain.

Un fragment d'environ 3 kb de l'ADNc de ABC1 humain a été obtenu à partir du clone d'ADNc désigné "pf10" contenant le premier domaine de fixation de l'ATP de ABC1, ce clone d'ADNc étant décrit dans l'article de
10 Luciani et al. (1994).

Ce fragment d'ADNc obtenu par digestion du clone pf10 à l'aide de l'endonucléase de restriction EcoRI, a été isolé sur un gel d'agarose après électrophorèse, puis marqué avec la digoxigénine selon les instructions du constructeur (kit commercialisé par Boehringer Mannheim)

15 Le fragment d'ADNc marqué a été utilisé afin de cribler la banque de cosmides LLNL du chromosome 9, immobilisés sur un filtre de NylonTM.

Six clones positifs ont été identifiés. Pour ces six cosmides, la sonde a hybridé avec des colonies uniques.

Un clone représentatif a été isolé à partir de chacune de ces colonies.

20 Les clones LLNLC 131J087 Q2 (désignés ici cos3a) et LLNLC 131O1165 Q2 (désignés ici cos6f) ont été analysés plus en détail.

Le clone cos3a a été sous-cloné sous la forme d'un fragment EcoRI dans le vecteur Gen3zf(-) et séquencé aux deux extrémités en utilisant la technologie Big Dye Terminator sur un séquenceur de type ABI377.

25 Les clones contenant des inserts distincts (déterminés après séquençage des extrémités des différents inserts ou encore par détermination de la taille de ceux-ci) qui étaient de longueur trop grande pour être complètement séquencés à l'aide des amorces hybridant avec les séquences du vecteur, ont été analysés plus avant par la technique
30 d'insertion de transposon puis de séquençage à l'aide d'amorces spécifiques du transposon (système "GPS" commercialisé par la Société New England Biolabs).

De cette manière, des séquences génomiques correspondant au gène ABC1 humain ont été isolées et caractérisées. Ces séquences ont été

comparées avec des séquences humaines et de souris référencées dans les bases de données.

Les séquences des jonctions intron-exon ont été déterminées.

Des amorces pour l'amplification de l'ADN des patients ont été
5 conçues à partir des séquences non répétitives de l'ADN intronique du gène ABC1, de telle manière à ce qu'une amplification des jonctions intron-exon ainsi que des bases essentielles pour la formation de la structure en lariat durant l'étape d'épissage soit incluse dans les fragments amplifiés.

L'ADN génomique des patients a été amplifié à l'aide des amorces
10 décrites ci-dessus en utilisant le kit Qiagen's Star Taq ou encore le kit Supertaq, en utilisant les conditions d'hybridation et des conditions de cycle d'amplification préconisées par le constructeur.

Les produits PCR amplifiés ont été purifiés en utilisant un kit commercialisé par la Société Qiagen, puis séquencés par la méthode Big
15 Dye Terminator sur un séquenceur ABI377.

EXEMPLE 16: Construction de vecteurs recombinants contenant un polynucléotide codant pour la protéine ABC1

I. Synthèse de du gène ABC1 humain.

20

De l'ARN total (500 ng) isolé de tissu de placenta humain (Clontech, Palo Alto, CA, USA) a été utilisé comme source pour la synthèse de l'ADNc du gène ABC1 humain, en mettant en oeuvre le système " Superscript one step RT-PCR (Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA) et les amorces
25 oligonucléotidiques spécifiques de ABC1 (0,25 µM) suivante:

- amorce aller : 5'-CTACCCACCCTATGAACAAC-3' (nt 75-94 de l'ADNc ABC1);

- amorce retour: 5'-TCCACCCCGTATGAACAGGG-3' (nt 6731-6751 de l'ADNc de ABC1).

30 Ces amorces oligonucléotidiques ont été synthétisées par la méthode au phosphoramidite sur un appareil synthétiseur d'ADN de type ABI 394 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Les sites reconnus par l'enzyme de restriction NotI ont été incorporés dans l'ADNc amplifié de 6676 pb par une nouvelle étape d'amplification en
35 utilisant 50 ng de l'ADNc de ABC1 humain comme matrice, et 0,25 µM des

amorce oligonucléotidiques décrites ci-dessus contenant, à leur extrémité 5', le site reconnu par l'enzyme de restriction NotI, en présence de 200µM de chacun desdits didéoxynucléotides dATP, dCTP, dTTP et dGTP ainsi que l'ADN polymérase de *Pyrococcus furiosus* (Stratagene, Inc. La Jolla, CA, 5 USA).

La réaction PCR a été réalisée pendant 30 cycles comprenant chacun une étape de dénaturation à 95°C pendant une minute, une étape de renaturation à 50°C pendant une minute et une étape d'extension à 72°C pendant deux minutes, dans un appareil thermocycleur pour PCR (Cetus 10 Perkin Elmer Norwalk, CT, USA).

II. Clonage de l'ADNc du gène ABC1 humain dans un vecteur d'expression:

L'insert de 6676 pb de l'ADNc de ABC1 humain a été cloné au site de restriction NotI du vecteur d'expression pCMV contenant un promoteur précoce du cytomégalovirus et une séquence activatrice ("Enhancer") ainsi que le signal de polyadénylation de SV40 (Beg et al., 1990; Applebaum-Boden, 1996), afin de réaliser le vecteur d'expression désigné pABC1.

La séquence de l'ADNc cloné a été confirmée par un séquençage sur les deux brins en utilisant la trousse de réaction "ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing ready" (commercialisée par Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) dans un séquenceur capillaire de type ABI 310 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

III. Construction d'un vecteur adénoviral recombinant contenant l'ADNc du gène ABC1 humain,

A- Modification du vecteur d'expression pCMV- β .

L'ADNc de la β -galactosidase du vecteur d'expression pCMV- β (Clontech, Palo Alto, CA, USA, Gene Bank Accession n°U02451) a été délété par digestion avec l'endonucléase de restriction NotI et remplacé par un polysite de clonage contenant, de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3', les sites suivants:

NotI, AscI, RsrII, AvrII, Swal, et NotI (séquence du polysite de clonage:

5'-CGGCCGCGGCGCGCCCGACCGCCTAGGATTAAATCGCGGCCCGCG-3'

ce polysite de clonage ayant été cloné au niveau du site NotI.

Le fragment d'ADN compris entre les sites EcoRI et SmaI du vecteur d'expression pCMV modifié a été isolé et cloné dans le site XbaI modifié du vecteur navette pXCXII (McKinnon et al., 1982; McGrory et al., 1988).

B-modification du vecteur navette pXCXII.

Un polysite de clonage comprenant, de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' les sites de restriction XbaI, EcoRI, SfiI, PmeI, NheI, SrfI, PaeI, Sall et XbaI (de séquence:

5' - GCTCTAGAATTCGGCCTCCGTGGCCGTTTAAACGCTAGCGCCCGGGCTTAATTAA
GTCGACTCTAGAGC-3')

a été insérée au niveau du site XbaI (nucléotide en position 3329) du vecteur pXCXII (McKinnon et al., 1982; McGrory et al., 1988).

Le fragment d'ADN EcoRI-Sall isolé du vecteur pCMV- β modifié contenant le promoteur/enhancer de CMV, les sites donneurs et accepteurs d'épissage de FV40 et le signal de polyadénylation de FV40 a ensuite été cloné dans le site EcoRI-Sall du vecteur navette pXCX modifié, désigné pCMV-11.

C- Préparation du vecteur navette pAD12-ABC1.

L'ADNc ABC1 humain est obtenu par une réaction de RT-PCR, comme décrit ci-dessus, et cloné au niveau du site NotI dans le vecteur pCMV-12, résultant dans l'obtention du vecteur pCMV-ABC1.

L'ADNc ABC1 contenu dans le vecteur pCMV-ABC1 est constitué d'un fragment d'ADN de 6676 pb comprenant la séquence allant du nucléotide en position 75 au nucléotide en position 6751 de l'ADNc ABC1 humain.

D. Construction de l'adénovirus recombinant ABC1.

L'adénovirus recombinant ABC1-rldV contenant l'ADNc ABC1 humain a été construit selon la technique décrite par McGrory et al. (1988).

Brièvement, le vecteur pAD12-ABC1 a été cotransfecté avec le vecteur tGM17 selon la technique de CHEN et OKAYAMA (1987).

De même, le vecteur pAD12-Luciférase a été construit et co-transfecté avec le vecteur pJM17.

Les adénovirus recombinants ont été identifiés par amplification PCR et soumis à deux cycles de purification avant une amplification à grande échelle dans la lignée de cellules embryonnaires de rein humain HEK 293 (American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA).

5 Les cellules infectées ont été collectées 48 à 72 heures après leur infection par les vecteurs adénoviraux et soumis à cinq cycles de lyse par congélation et décongélation.

Les lysats bruts ont été extraits à l'aide de Fréon (Halocarbène 113, Matheson Product, Scaucus, N.J. USA), sédimentés deux fois dans le
10 chlorure de césium supplémenté d'albumine murine à 0,2% (Sigma Chemical Co., Saint-Louis, MO, USA) et dialysés extensivement contre du tampon composé de 150 mM NaCl, 10 mM Hepes (pH 7,4), 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, et 1 mM CaCl₂.

Les adénovirus recombinants ont été conservés à -70°C et titrés avant
15 leur administration à des animaux ou leur incubation avec des cellules en culture.

L'absence d'adénovirus contaminant de type sauvage a été confirmée par criblage à l'aide d'amplification PCR en utilisant des amorces oligonucléotidiques localisées sur la partie structurale de la région délétée.

20

IV Validation de l'expression de l'ADNc ABC1 humain.

Des anticorps polyclonaux spécifiques du polypeptide ABC1 humain ont été préparés chez des lapins et des poussins par injection du peptide
25 synthétique "LHKNQTVVDVAVLTSFLQDEKVKESYV", dérivé de la protéine ABC1. Ces anticorps polyclonaux sont utilisés pour détecter et/ou quantifier l'expression du gène ABC1 humain dans des cellules et des modèles animaux par immunoempreinte et/ou immunodétection.

L'activité biologique de ABC1 peut être suivie en quantifiant les flux de
30 cholestérol induits par apoA-I à partir de cellules transfectées par le vecteur pCMV-ABC1 qui ont été chargées en cholestérol (Remaley et al., 1997).

V. Expression in vitro de l'ADNc abc1 humain dans les cellules.

Des cellules de la lignée HEK293 et de la lignée COS-7 (American Tissue Culture Collection, Bethesda, MD, USA), ainsi que des fibroblastes en culture primaire dérivés de patients Tangier ou de patients atteints d'hypo-alphalipoprotéïnémie sont transfectés avec le vecteur d'expression pCMV-ABC1 (5-25µg) en utilisant de la Lipofectamine (BRL, Gaithersburg, MD, USA) ou par co-précipitation à l'aide de chlorure de calcium (Chen et al., 1987).

Ces cellules peuvent être également infectées avec le vecteur pABC1-AdV (Indice d'infection, MOI=10).

L'expression de ABC1 humain peut être suivie par immunoempreinte ainsi que par quantification de l'efflux de cholestérol induit par apoA-1 à partir de cellules transfectées et/ou infectées.

La complémentation du défaut génétique dont sont atteints les patients Tangier et les patients hypo-alphalipoprotéïnémiques à partir de fibroblastes de ces patients, peut être confirmée par la détection de l'expression du gène ABC1 normal, ce qui permet d'établir l'importance fonctionnelle de ce récepteur.

VI. : Expression in vivo du gène ABC1 dans différents modèles animal.

Un volume approprié (100 à 300 µl) d'un milieu contenant l'adénovirus recombinant purifié (pABC1-AdV ou pLucif-AdV) contenant de 10^8 à 10^9 unités formant des plages de lyse (PFUs) sont infusées dans la veine Saphène de souris (C57BL/6, à la fois souris témoins et modèles de souris transgéniques ou knock-out) au jour 0 de l'expérience.

L'évaluation du rôle physiologique de la protéine ABC1 dans le métabolisme des lipoprotéines est réalisée par détermination de la quantité totale de cholestérol, de triglycérides, de phospholipides et de cholestérol libre (Sigma et Wako Chemicals, Richmond, VA, USA), de cholestérol-HDL (CIBA-Corning, Oberlin, OH, USA) et des apolipoprotéines A-I, A-II, E et B de souris (Foger et al., 1997), avant (jour zéro) et après (jours 2, 4, 7, 10, 14) l'administration de l'adénovirus.

Des études cinétiques à l'aide de produits marqués radioactivement tels qu'apoA-I-HDL, CE-HDL ainsi que apoB-LDL et CE-LDL sont réalisées au jour 5 après l'administration des vecteurs rLucif-AdV et rABC1-AdV afin

d'évaluer l'effet de l'expression de ABC1 sur le métabolisme des HDLs et des LDLs ainsi que sur la libération du cholestérol vers le foie.

L'effet de l'expression de ABC1 sur le développement de l'athérosclérose peut être évalué en quantifiant la surface moyenne de lésion aortique dans des souris apoE après administration du vecteur rABC1-Adv.

De plus, des souris transgéniques et des lapins surexprimant le gène ABC1 peuvent être produits, conformément à l'enseignement de Waisman (1995) et Hoeg (1996) en utilisant des constructions contenant l'ADNc de ABC1 humain sous le contrôle de promoteurs endogènes tels que ABC1, CMV ou apoE.

L'évaluation de l'effet à long terme de l'expression de ABC1 sur la cinétique des lipides, lipoprotéines, apolipoprotéines plasmatiques et sur l'athérosclérose pourra être réalisée comme décrit ci-dessus.

EXEMPLE 17 : Utilisation de vésicules pour le criblage de molécules agonistes et antagonistes de la protéine ABC1.

La base de cette essai est la reconstitution de membranes ayant incorporé la protéine ABC1 et contenant des substrats comme le cholestérol ou des phospholipides. La protéine ABC1 peut alors être activée ou sa fonction réprimée par l'ajout de molécules d'intérêt. La sortie des substrats par le canal formé par la protéine ABC1 est alors détectée.

a) Reconstitution d'une membrane contenant la protéine ABC1 et un substrat lipidique marqué.

Différentes stratégies peuvent être employées pour fabriquer ces membranes, des méthodes utilisant des solvant organiques, des moyens mécaniques comme la sonication, la " French press ", ou bien par des cycles de congélation- décongélation, ou encore utilisant des détergents (les cholates, le Chaps, Chapso) (référence : Rigaud et al. Biochimica et Biophysica Acta 1231 (1995) 223-246).

Plus particulièrement, un substrat lipidique comme des phospholipides, du cholestérol ou ester de cholestérol, radioactif du type 3H-cholestérol, 125-I-cholestérol, 3H-phosphatidylcholine ou bien fluorescent avec du NBD ou du pyrene (Molecular Probes ; <http://www.probes.com>) et de la phosphatidyle-

choline d'œuf (1 mM) sont séchés sur le culot d'un flacon en verre. Dans ce flacon sont mélangés à la fois du cholate de sodium et la protéine ABC1 au ratio mole à mole de 0,3. L'ensemble est mélangé au vortex pendant 5 minutes puis incubé à 25°C durant 30 minutes puis dialysé contre un tampon
5 salin. Le protéoliposome réalisé selon ce protocole est suivi par turbidimétrie pour vérifier sa bonne fabrication.

b) Capture du protéoliposome sur une surface solide :

Cette étape peut être réalisée en incorporant des protéines de fixation du type intégrine. Dans ce protocole, on utilise une capture par les anticorps
10 dirigés contre la protéine ABC1 et préalablement adsorbée sur une plaque 96 ou 384 puits.

Une solution contenant ces anticorps à la concentration de 100 µg/l sont absorbés sur ces plaques multipuits par incubation sur la nuit à 4°C. Après lavage, la plaque est ensuite saturée par de l'albumine bovine à 1 mg/ml
15 incubé durant 2 heures à 37°C. L'ensemble est encore lavé et incubé avec les protéoliposomes contenant ABC1 durant 2 heures à 37°C.

c) Liaison aux molécules d'intérêt

Cette étape est réalisée par incubation de produits durant 1 heure à 37°C

d) Détermination de l'activation ou inhibition de la protéine ABC1

20 Si le substrat est fluorescent, la fluorescence du surnageant nous révèle l'activité de produit à induire un transport de lipide vers l'extérieur du protéoliposome. Ou encore, l'utilisation de système Confocal nous informe sur les quantités de substrat à l'intérieur et l'extérieur du protéoliposome. Si le substrat est radioactif, l'utilisation de plaques du type CytoStar ayant un
25 fond avec du liquide de scintillation permet de révéler le substrat encore séquestré dans le protéoliposome.

EXEMPLE 18 : Utilisation de transport d'anion pour le criblage de molécules agonistes et antagonistes de la protéine ABC1).

30 Le principe de cet essai réside dans la propriété qu'a la protéine ABC1 à transporter les anions lors de son activation.

a) Les cellules macrophagiques de la lignées THP-1, cellules humaines monocytic leukemia, sont un modèle de macrophages différenciés. Les cellules sont cultivées dans un milieu RPMI 1640 supplémenté par 10% de
35 sérum de veau fœtal dans des plaques 48-multipuits à la densité de 2 105

cellules par puits. Les cellules fibroblastiques de patients atteints de la maladie de Tangier peuvent être utilisées comme témoin négatif parce que leur protéine ABC1 n'est pas fonctionnelle. Un autre témoin négatif peut être obtenu par l'ajout d'anticorps anti-ABC1.

5 b) L'utilisation de cellules défectives en transport anioniques ou bien des cellules traitées avec des inhibiteurs de canaux anioniques (type Verapamil, un inhibiteur de P-glycoprotéine ou le tetraethylammonium, un inhibiteur de canal potassique) peuvent être aussi utilisés.

c) Pour l'essai proprement dit, les cellules sont ensuite lavées par un milieu
10 Earles's modified salt solution (ESS) préchargées avec 1ml de KI à 1 $\mu\text{mol/L}$ (0,1 $\mu\text{Ci/ml}$ de NaI^{125}) dans ce milieu ESS pour 30 minutes à 37°C. Les produits sont alors ajoutés dans le milieu extracellulaire. Les cellules sont ensuite lavées par le milieu ESS.

d) La quantité d'iode dans le milieu est détectée toute les minutes durant
15 11 minutes. Les deux premiers points correspondent à l'efflux basal. A la fin de l'incubation, le milieu est repris et la quantité d'iode restant dans les cellules est compté suite à la lyse des cellules dans du NaOH 1 molaire.

e) La quantité totale de radioactivité au temps zéro est égale à la somme de la radioactivité trouvée dans le surnageant et résiduelle dans les cellules.
20 Les courbes d'efflux sont construites en marquant le pourcentage de radioactivité libéré dans le milieu en fonction du temps.

**EXEMPLE 19 : Utilisation de macrophages THP-1 exprimant l'IL-1bêta
25 pour le criblage de molécules agonistes et antagonistes de la protéine ABC1).**

Le principe de ce test est que toutes substances modulant l'activité de la protéine ABC1 a des répercussions sur la synthèse d'IL-1beta.

30

a) Les cellules macrophagiques de la lignées THP-1, cellules humaines monocytic leukemia, sont un modèle de macrophages différenciés. Les cellules sont cultivées dans un milieu RPMI 1640 supplémenté par 10% de sérum de veau foetal dans des plaques multipuits à la densité de 2 105
35 cellules par puits.

- b) Pour l'essai proprement dit, les cellules sont ensuite lavées et placés dans un milieu RPMI 1640 contenant 1 mg/ml d'albumine humaine purifiée fraction IV.
- c) Les produits sont ajoutés dans le milieu extracellulaire. Simultanément,
5 les cellules sont alors activées par ajout de lipopolysaccharide (LPS) durant 3 heures à 1 µg/ml suivi par une incubation de 30 minutes en présence de ATP à 5 mmol/L.
- d) Les concentrations en IL-1beta et en contrôle l'IL-1alpha, le tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) et l'IL-6 sont déterminées par des kits
10 ELISA selon les instructions des fabricants (R&D Sytem ; IL-1bêta humain Chemiluminescent ELISA référence QLB00). Les variations en ARNm de l'IL-1bêta qui n'est pas censé être affecté sont évaluées par la technique de Northern blot avec la sonde correspondante.

REFERENCES

- Altschul S.F. et al, J. Mol. Biol. 1990 215 : 403-410
- Altschul S.F. et al, Nucleic Acids Res. 1997 25 : 3389-3402
- Applebaum-Boden, JCI 97, 1996
- 5 Ausubel et al., 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y
- Beard et al., Virology 75 (1990) 81
- Beaucage et al., *Tetrahedron Lett* 1981, **22**: 1859-1862
- Becq et al. Journal of Biological Chemistry vol 272, n°5 pages 2695-2699,
10 1997
- Beg et al PNAS 87 p3473 1990
- Bender et al., J. Virol. 61 (1987) 1639
- Bernstein et al. Genet. Eng. 7 (1985) 235
- Boulianne et al ; Nature 312 :643 (1984)
- 15 Breakfield et al., New Biologist 3 (1991) 203
- Brown EL, Belagaje R, Ryan MJ, Khorana HG, *Methods Enzymol* 1979;**68**:109-151
- Cabilly et al., US patent n°4,816,567
- Chen and Kwok Nucleic Acids Research 25:347-353 1997
- 20 Chen et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94/20 10756-10761, 1997
- Chen et al., 1987, Mol. Cell. Biol., **7** : 2745-2752.
- Chomczynski, P. and Sacchi, 1987, Anal. Biochem., **162**, 156-159.
- DeRisi J. et al., 1997, Science, **278**, 680-686.
- Dib C. et al., 1996, Nature, **380** : 152-154.
- 25 Felgner et al., PNAS 84 (1987) 7413
- Flotte et al., 1992, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **7** : 349-356.
- Forsell Y. et al., 1997, Biol. Psychiatry, **42** : 898-903.

- Fraley et al., 1979, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **76** : 3348-3352.
- Fraley et al., J.Biol.Chem. 255 (1980) 10431
- Francis et al., 1995, J. Clin. Invest. , **1** : 78-87
- Fromont-Racine et al, 1993. Nucleic Acid Res.21(7) :1683-1684
- 5 Fuller S.A. et al., 1996, *Immunology in Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel et al.
- Gopal, 1985, Mol. Cell. Biol., **5** : 1188-1190.
- Graham et al., 1973, Virology, **52** : 456-457.
- Graham et al., J. Gen. Virol. **36** (1977) 59
- 10 Haff L.A. and Smirnov I.P., Genome Research, 7:378-388, 1997
- Ham, Methods Cell.Biol. 21a (1980) 255
- Hames BD and Higgins SJ, 1985, "Nucleic acid hybridization : a practical approach", Hames and Higgins Ed., IRL Press, Oxford.
- Hammeling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas,
- 15 Elsevier, N.Y., pp. 563-681 51981
- Harland et al., 1985, J. Cell. Biol., **101** : 1094-1095.
- Hoeg PNAS 93 p11448, 1996
- Horvath S. et al., 1998, Am. J. Hum. Genet., 1998, **63** : 1886-1897.
- Houben Weyl, 1974, in Methode der Organischen Chemie, E. Wunsch Ed.,
- 20 Volume 15-I et 15-II,
- Huygen et al., 1996, Nature Medicine, **2**(8):893-898
- Kaneda et al., Science 243 (1989) 375
- Kim et al. Genomics (1996), **34** :213-218)
- Koch Y., 1977, Biochem. Biophys. Res. Commun., **74**:488-491
- 25 Köhler et al, Eur. J. Immunol. **6** :511 (1976)
- Köhler et al, Eur. J. Immunol. **6**:292 (1976)
- Köhler et al, Nature **256** :495 (1975)
- Kohler G. and Milstein C., 1975, Nature, **256** : 495.

- Kozbor et al., 1983, *Hybridoma*, 2(1):7-16.
- Lander and Schork, *Science*, 265, 2037-2048, 1994
- Langmann T. et al., 1999, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 257 : 29-33.
- Leger OJ, et al., 1997, *Hum Antibodies*, 8(1): 3-16
- 5 Levrero et al., *Gene* 101 (1991)
- Luciani M.F. et al., 1994, *Genomics*, 21 : 150-159.
- Lyer V. et al., 1999, *Science*, 283 : 83-87.
- Mackinnon et al *Gene* 19 p33 1982
- Maniatis et al. *Molecular cloning : A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor
- 10 Press, Cold Spring, NY 1982
- Marcil M. et al., 1999, *Arteriosclerosis Throbosis and Vascular Biology*, 17 : 1813-1821.
- Martineau P, Jones P, Winter G, 1998, *J Mol Biol*, 280(1):117-127
- McCormick, *BioTechnology* 3 (1985) 689
- 15 McGrory et al (*Virology*, 163, 614, 1988
- McLaughlin BA et al., 1996, *Am. J. Hum. Genet.*, 59 : 561-569.
- Merrifield RB, 1965a, *Nature*, 207(996): 522-523.
- Merrifield RB., 1965b, *Science*, 150(693): 178-185.
- Morrison et al., EP 173494
- 20 Morrison, *Science* 229 :1202 (1985)
- Narang SA, Hsiung HM, Brousseau R, *Methods Enzymol* 1979;68:90-98
- Neuberger et al., *Nature* 314 : 268 (1985)
- Neuberger et al., WO 8601533
- Nickerson D.A. et al., *Genomics*, 1992, 12 : 377-387.
- 25 Nicolau C. et al., 1987, *Methods Enzymol.*, 149:157-76.
- Oi et al., *Biotechnique* 4 :214 (1986)
- Okayama (*Mol Cell. Biol.* 7: 2745, 1987

- Pagano et al., J. Virol. 1 (1967) 891
- Potter et al., 1984, Proc Natl Acad Sci U S A., 81(22):7161-5
- Reimann KA, et al., 1997, AIDS Res Hum Retroviruses. 13(11): 933-943
- Remaley et al. ATVB 17,1813,1997 Chen et al Mol Cell Biol 7 p2745 1987
- 5 Ridder R, Schmitz R, Legay F, Gram H, 1995, Biotechnology (N Y), 13(3):255-260
- Rigaud et al. Biochimica et Biophysica Acta 1231 (1995) 223-246
- Robinson et al., WO 8702671
- Rust S. et al., Nature Genetics, vol. 20, Septembre 1998, pages 96-98
- 10 Sambrook, J. Fritsch, E. F., and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. 2ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold spring Harbor, New York.
- Samulski et al., 1989, J. Virol., 63 : 3822-3828.
- Sanchez-Pescador R., 1988, J. Clin. Microbiol., 26(10):1934-1938
- 15 Sham P.C. et al., Ann. Hum. Genet., 1995, 59 : 323-336.
- Sternberg N.L., 1992, Trends Genet., 8 : 1-16.
- Sternberg N.L., 1994, Mamm. Genome, 5 : 397-404.
- Strautnieks S.S. et al., 1998, Nature Genetics, 20 : 233-235.
- Tacson et al., 1996, Nature Medicine, 2(8):888-892.
- 20 Taniguchi et al., EP 171496
- Tur-Kaspa et al, 1986, Mol. Cell. Biol., 6 : 716-718.
- Urdea M.S., 1988, Nucleic Acids Research, 11: 4937-4957
- Urdea MS et al., 1991, Nucleic Acids Symp Ser., 24: 197-200.
- Vaisman JBC 270 p12269, 1995
- 25 Van, den Hazel. H., H. Pichler, V. M. M. do, E. Leitner, A. Goffeau, and G. Daum. 1999. PDR16 and PDR17, two homologous genes of Saccharomyces cerevisiae, affect lipid biosynthesis and resistance to multiple drugs. J Biol Chem. 274 (4):1934-41.

Wands et al., Gastroentérology 80:225-232 (1981)

Xiong M. et al., 1999, Am. J. Hum. Genet., 64 : 629-640.

Yamon et al. Blood vol 90, n°8 pages 2911-2915, 1997

REVENDICATIONS

- 5 1. Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 1-14, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.
2. Acide nucléique comprenant un polynucléotide choisi dans le groupe
10 constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 15-47 , ou un acide nucléique de séquence complémentaire.
3. Acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques
15 SEQ ID NO 48-90, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.
4. Acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 48-90, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.
20
5. Acide nucléique hybridant, dans des conditions de forte stringence, avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 48-90, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.
- 25 6. Acide nucléique comprenant un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 91, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.
7. Acide nucléique comprenant au moins huit nucléotides consécutifs d'un
30 polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques

SEQ ID NO 92, un fragment biologiquement actif de celui-ci ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

8. Acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 92, un fragment biologiquement actif de celui-ci ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

9. Acide nucléique hybridant, dans des conditions de forte stringence, avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 92, un fragment biologiquement actif de celui-ci ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

10. Acide nucléique ayant au moins huit nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93-96, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

11. Acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93-96, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

12. Acide nucléique hybridant, dans des conditions de forte stringence, avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93-96, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

13. Acide nucléique ayant au moins huit nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 97-108 et comprenant la base polymorphe, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

14. Sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1, d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi les acides nucléiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 9.

5

15. Sonde ou amorce selon la revendication 14, comprenant un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 109-138, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

10

16. Sonde ou amorce nucléotidique utile pour la détection d'une mutation dans le gène ABC1, d'une longueur d'au moins 15 nucléotides, choisie parmi les acides nucléiques selon l'une des revendications 11 et 12.

15

17. Sonde ou amorce nucléotidique selon la revendication 16, comprenant un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID NO 109 – 112, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

20

18. Sonde ou amorce nucléotidique utile pour la détection d'un polymorphisme dans le gène ABC1, d'une longueur d'au moins 15 nucléotides, choisie parmi les acides nucléiques selon la revendication 13.

25

19. Sonde ou amorce selon la revendication 18, comprenant un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID NO 142-149, ou un acide nucléique de séquence complémentaire.

30

20. Amorce nucléotidique comprenant au moins 15 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 97-108 ou de leurs séquences complémentaires, la base de l'extrémité 3' de ces amorces étant complémentaire du nucléotide localisée immédiatement du côté 5' de la base polymorphe de l'une des séquences SEQ ID NO 97-108 ou de leurs séquences complémentaires.

21. Amorce nucléotidique comprenant au moins 15 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 97-108 ou de leurs séquences complémentaires, la base de l'extrémité 3' de ces amorces étant complémentaire d'un nucléotide situé à 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 nucléotides ou plus du côté 5' de la base polymorphe de l'une des séquences SEQ ID NO 97-108 ou de leurs séquences complémentaires.
22. Procédé pour l'amplification d'un acide nucléique selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 contenu dans un échantillon, ladite méthode comprenant les étapes de :
- a) mise en contact de l'échantillon dans lequel la présence de l'acide nucléique cible est suspectée avec une paire d'amorces nucléotidiques dont la position d'hybridation est localisée respectivement du côté 5' et du côté 3' de la région de l'acide nucléique cible dont l'amplification est recherchée, en présence des réactifs nécessaires à la réaction d'amplification; et
 - b) détection des acides nucléiques amplifiés.
23. Procédé d'amplification selon la revendication 22, caractérisé en ce que les amorces nucléotidiques sont choisies parmi les amorces selon l'une quelconque des revendications 14 à 19.
24. Nécessaire pour l'amplification d'un acide nucléique selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 comprenant :
- a) un couple d'amorces nucléotidiques dont la position d'hybridation est localisée respectivement du côté 5' et du côté 3' de l'acide nucléique cible dont l'amplification est recherchée;
 - b) le cas échéant, les réactifs nécessaires à la réaction d'amplification.

25. Nécessaire pour l'amplification d'un acide nucléique selon la revendication 22, caractérisé en ce que les amorces nucléotidiques sont choisies dans le groupe constitué des amorces selon l'une des revendications 14 à 19.

26. Sonde nucléotidique selon l'une quelconque des revendications 14 à 19, caractérisée en ce qu'elle comprend un composé marqueur dont la présence est détectable.

10

27. Procédé de détection de la présence d'un acide nucléique selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 dans un échantillon, ladite méthode comprenant les étapes de :

15 a) mettre en contact une ou plusieurs sondes nucléiques selon l'une des revendications 14 à 19 avec l'échantillon à tester;

b) détecter le complexe éventuellement formé entre la ou les sondes et l'acide nucléique présent dans l'échantillon.

20 28. Procédé de détection selon la revendication 27, caractérisé en ce que la ou les sondes sont immobilisées sur un support.

29. Nécessaire pour la détection de la présence d'un acide nucléique selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 dans un échantillon, ledit nécessaire comprenant :

25 a) une ou plusieurs sondes nucléotidiques selon l'une quelconque des revendications 14 à 19;

b) le cas échéant, les réactifs nécessaires à la réaction d'hybridation.

30 30. Nécessaire de détection selon la revendication 29, caractérisé en ce que la ou les sondes sont immobilisées sur un support.

31. Vecteur recombinant comprenant un acide nucléique selon l'une des revendications 1 à 13.
- 32 Vecteur selon la revendication 31 caractérisé en ce qu'il est un
5 adénovirus.
- 33 Vecteur selon l'une des revendications 32 et 33 caractérisé en ce qu'il est l'ABC1-rIdV
- 10 34 Cellule hôte recombinante comprenant un acide nucléique selon l'une des revendications 1 à 13 ou un vecteur recombinant selon l'une des revendications 31 à 33.
35. Polypeptide ABC1 muté, caractérisé en ce qu'il comprend un polypeptide
15 de séquence d'acides aminés SEQ ID NO 140.
36. Polypeptide ABC1 muté, caractérisé en ce qu'il comprend un polypeptide de séquence d'acides aminés SEQ ID NO 141.
- 20 37. Anticorps dirigé contre un polypeptide ABC1 muté selon l'une quelconque des revendications 35 et 36, ou un fragment peptidique de ce dernier..
38. Anticorps selon la revendication 37, caractérisé en ce qu'il comprend un
25 composé détectable.
39. Procédé pour détecter la présence d'un polypeptide selon l'une des revendications 35 ou 36 dans un échantillon, comprenant les étapes de:
- a) mise en contact de l'échantillon avec un anticorps selon l'une des
30 revendications 37 ou 38;
- b) détection du complexe antigène/anticorps formé .
40. Nécessaire de diagnostic pour la détection de la présence d'un polypeptide selon l'une des revendications 35 ou 36 dans un échantillon,
35 ledit nécessaire comprenant:

- a) un anticorps selon l'une des revendications 37 ou 38;
- b) un réactif permettant la détection des complexes antigènes/anticorps formés.

- 5 41. Composition pharmaceutique destinée à la prévention ou au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol, comprenant un acide nucléique selon l'une des revendications 1 et 6, en association avec un ou plusieurs excipients physiologiquement compatibles.
- 10 42. Composition pharmaceutique destinée à la prévention ou au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol, comprenant un vecteur recombinant selon la revendication 31, en association avec un ou plusieurs excipients physiologiquement
- 15 compatibles.
43. Utilisation d'un acide nucléique selon l'une des revendications 1 et 6 pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de l'Athérosclérose sous diverses formes ou plus particulièrement au traitement
- 20 de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.
44. Utilisation d'un vecteur recombinant selon la revendication 31 pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de l'Athérosclérose sous
- 25 diverses formes ou plus particulièrement au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.
- 45 Utilisation selon la revendication 44 caractérisé en ce que le vecteur est l'ABC1-rdV.
- 30 46. Utilisation du polypeptide ABC1 de séquence SEQ ID NO 139 pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de l'Athérosclérose sous diverses formes ou plus particulièrement au traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.

47. Composition pharmaceutique pour la prévention ou le traitement de sujets affectés d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol, comprenant une quantité thérapeutiquement efficace du polypeptide de séquence SEQ ID NO 139.

5

48 Utilisation du polypeptide ABC1, ou de cellules exprimant le polypeptide ABC1, pour cribler des principes actifs pour la prévention ou le traitement de maladies résultant d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol.,

10

49. Procédé de criblage d'un composé actif sur le métabolisme du cholestérol, agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

- 15 a) préparer des vésicules membranaires contenant le polypeptide ABC1 et un substrat lipidique comprenant un marqueur détectable ;
- b) incuber les vésicules obtenues à l'étape a) avec un composé candidat agoniste ou antagoniste ;
- c) mesurer qualitativement et/ou quantitativement la libération du substrat lipidique comprenant un marqueur détectable ;
- 20 d) comparer la mesure obtenue à l'étape b) avec une mesure de la libération du substrat lipidique marqué par les vésicules n'ayant pas préalablement été incubées avec le composé candidat agoniste ou antagoniste.

50. Procédé de criblage d'un composé actif sur le métabolisme du cholestérol, agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

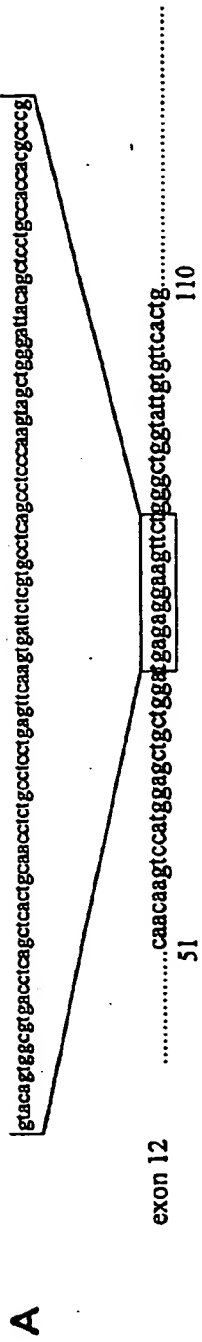
- 25 a) obtenir des cellules, par exemple une lignée cellulaire, exprimant naturellement ou après transfection le polypeptide ABC1 ;
- b) incuber les cellules de l'étape a) en présence d'anion marqué par un marqueur détectable ;
- 30 c) laver les cellules de l'étape b) afin d'éliminer l'excès de l'anion marqué n'ayant pas pénétré dans ces cellules ;
- d) incuber les cellules obtenues à l'étape c) avec un composé candidat agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1 ;
- 35 e) mesurer l'efflux de l'anion marqué ;

f) comparer la valeur de l'efflux de l'anion marqué déterminé à l'étape e) avec la valeur de l'efflux de l'anion marqué mesuré avec des cellules n'ayant pas préalablement été incubées en présence du composé candidat agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1.

5

51. Procédé de criblage d'un composé actif sur le métabolisme du cholestérol, agoniste ou antagoniste du polypeptide ABC1, ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

- a) cultiver des cellules d'une lignée monocyttaire humaine dans un milieu de culture approprié, en présence d'albumine humaine purifiée ;
- 10 b) incuber les cellules de l'étape a) simultanément en présence d'un composé stimulant la production d'IL-1 beta et du composé candidat agoniste ou antagoniste;
- c) incuber les cellules obtenues à l'étape b) en présence d'une concentration
- 15 appropriée d'ATP ;
- d) mesurer d'IL-1 beta libérée dans le surnageant de culture cellulaire.
- e) comparer la valeur de la libération de l'IL-1 beta obtenue à l'étape d) à la valeur de l'IL-1 beta libérée dans le surnageant de culture de cellules n'ayant pas été préalablement incubées en présence du composé candidat agonsite
- 20 ou antagoniste.



B

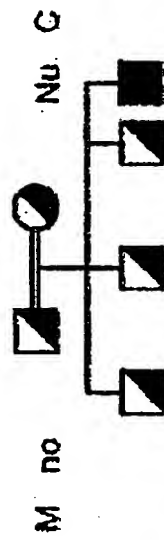


Figure 1

2/2

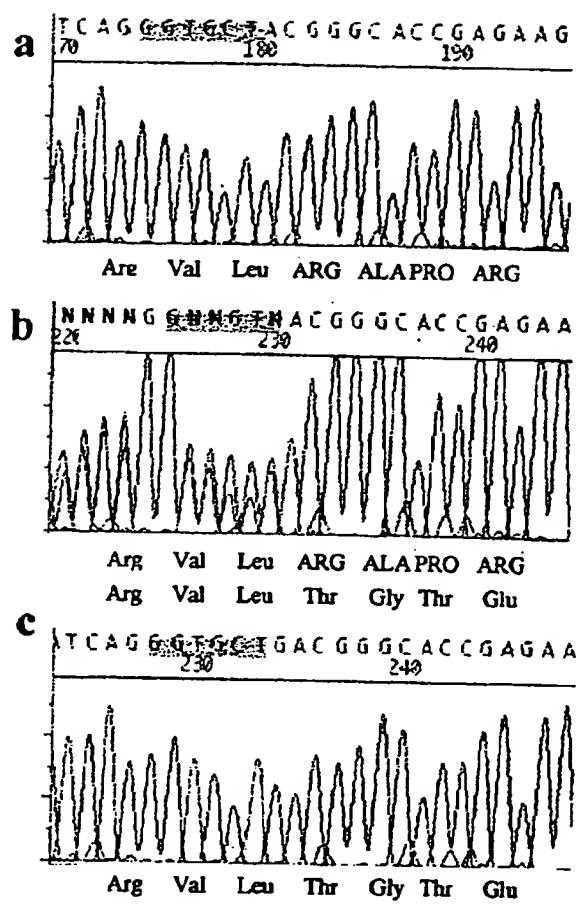


Figure 2

LISTE DE SEQUENCES

- <110> Rhône Poulenc Rorer S.A.
- 5 <120> Acides nucléiques et protéines du gène ABC1 humain et leur application en thérapie et diagnostic
- <130> RPR-ABC1-1
- 10 <140>
<141>
- <160> 141
- 15 <170> PatentIn Ver. 2.1
- <210> 1
<211> 3153
<212> ADN
- 20 <213> Homo sapiens
- <400> 1
 acatggcaat ggcattcatt aggaatctag ctgggaaaaat ccagtgtgta tgcttgga 60
 tgagggatct ggggctggag agaaaggcat gggcatgcct tggagggact tgtgtgtcaa
 120
 gctgaggacc ttacttttaa gctctagggg accaggcaag gggagatgta gatacgttac
 180
 tctgatgggg tggatgaatt gaagaaggat gaggcaagaa tgaaggcaga gaccagggag
 240
 gaggtctctc aagtggccaa ggcataaagc aagaaatgag gcctgggtgac tgcttagtgg
 300
 cagagcagtg aaagagaggg aggcatacaa gtgagtctcg atttctagct gggtggtggg
 360
 tagcgatgtc cagtaggcca gtggctactg aggtctgcag tggaggaggg tggttgggct
 420
 ggagacagat gatgagggag tcatcagcct gtgggtggaa gaaaaggga cctcttccaa
 480
 ctgttttctt tgcttcttcc ctctctttct cttttttttt ttttttggac agagtcttgc
 540
 tctgtcacc aggctgaaat gcagtggcat gatcttggct caccacagcc tccgcctcct
 600
 gggttcaagc aattctctcg tctcagcctc cagagtagct gggattacag gcacatatca
 660
 ctgtgcccg ctaatttttg tattttcagt ggagatggga ttccaccatg ttggtcgggc
 720
 tggaatgaac tctgacctc aagtgatcca cctgcctcag cctcccaaag tgttgggatt
 780
 acaggcattg agccaccgag ccggccttt cttccctctc ttaaagagt tttatttaat
 840
 tccacaaaca tgagcttgtc acccctgta gcctggcacc tctacacga ggtgatggct
 900
 gaggcttctg cttctgctgg ggtagctctg atctttctgc tttctctggc actgtctacc
 960
 catgttgctt caccacacag gtcccagggc acctctctcg ggcaagtctt ggaacctctt
 1020
 gacactgatt tgctctcttt tctgagctgc ttttagccac ccatcctcgg gacctgtttt
 1080
 ctctctgctt ccacctctgc gggcagtcct aggtctcctg cccctcacga gcacccaga
 1140
 gaggccacgt gctcagtgat ctccagtggc gcactcttct agtcttgcta ttctttttgg
 1200
 ccatgttggt cagaaacat actgggcagg gccgacttca ccctaaaggc tgcgtctctt
 1260
 cactctgctt ttgtttgttc caataaagt ggcttcagaa ttgctaacce tagcctctgt
 1320
 gaacttgta ggtacaattt tgtgtctgtt atgttaacaa aaatacatat ataccttctt
 1380

ggtgatggta taaattgcta ttctctattg gaaagcaatt tggaaatgaaa atttaaagaa
 1440
 ccattttaaa atatgctatc ctgcgtacct ccattccacc caccceccagg gatgtagcct
 1500
 5 actgaaataa ttttaaagaa gtcaccatat gagagaaaat gttattgcta tattgttatt
 1560
 gtgagaaatt ggaaatagac taaatgttca gcactatagg aataattaat gaaattacat
 1620
 atactctata caatcattat gctgccattg aaataataaa taaaaaggcg caagggggga
 1680
 10 aaagcttata atgttagtga aactaagact gattttttta taaagcagca gttttcagac
 1740
 ccttggagac tccaattcgg tagaaccaga gcttcactct ctctgtcgaa gctgtgacag
 1800
 15 gagttgcaaa tgcctctcct ttttgcgtgag ttgcagctg ctgtttttcc ggcagcacat
 1860
 ctgtgcaggc ctctgcctcg gccctctggt atctgctgat tgagcagcgg attgatctgt
 1920
 ctttctcttt cgtgttgacc catgtgagga accaactggc aaggggaacaa gaaatggaaa
 1980
 20 taggcctcct ttgcatcatg acctgtacat cctgcaattg gaaaagattg tactttagtt
 2040
 ggtttaacca gcagcattat ttttctaacc taagcagtaa gaaggaatta ggttttatgt
 2100
 25 ggatcaaca gactgggtct caaaagagga aggtgataga acacagtggg gagggggagg
 2160
 tgcactagaa acagagggcc tatgctttca ttctggcttt gctacttaat agctgtgtga
 2220
 cccaatctta gagacttaac ctctctgaac ttccattttc tcatgtataa aatgggaaat
 2280
 30 attaaaggat actcactggg ctggtggcct gtgcctgtaa tcccagcact tggggagggt
 2340
 gaggtgggag gatcacttga gcccggtgt tcaagaccag ccagggcaac atggcaagac
 2400
 35 tctgtctcta tgaaaaaatt aaaaattagc caggtgtggt ggtgtgcacc tgtagtctta
 2460
 gctacttggg aggtgagat gggaggatca ctgggcttg ggaggtcaag gctgcggtga
 2520
 gctgtgatcc catcactgca ctccagcccg ggcggcagag cgagacactg aatccaaacg
 2580
 40 acaacaacaa caaaaggcaa aaaaataaaa gtgccctctt tatggagttg tgtaagggtga
 2640
 agcatatata ctattcaaca tagtaactat ataaaggaag tattgttgtt gttactgtag
 2700
 45 ttaataccat taagtgagat gtttcgtata gtggaaagca catggactct gaattcagac
 2760
 tggcttgact ttgagtctca gctccacatc tagtaatact atgaccaagc cctgggttaa
 2820
 50 atcatgtttt tttttcttca gccttagtct tctcacatat aaaataggga cactgtcatt
 2880
 tacctcagtt ttctgtgagg ataaaacaac gacagtgtat atgcaagtat tttgtaaatt
 2940
 ttgtagtgtc cctcaagatt tagttggtgt ttactacttg tactttctca ctggaatggc
 3000
 55 agatgctgtt ggacagcagg gacaatgacc acttttggga acagcagttg gatggcttag
 3060
 attggacagc ccaagacatc gtggcggttt tggccaagca ccagaggat gtccagtcca
 3120
 gtaatgggtc tgtgtacacc tggagagaag ctt
 60 3153

<210> 2
 <211> 7660
 65 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 2

aattcgggtc caattaaatt ttgaaattt tatattaaa attatattag tagggatggg 60
taagagggtg ttgtgtctgg ttggttggtt agttgctatg actcagaatt gctaagaaaa
120
cagaaaagta agataagatc attgttttaa cctcttttcc tccacaaaat caataaataa
5 180
catatcccta aattactctt agaatttctc ttaaattgca gtgaaaaacc aaaatccttc
240
attcttggtt gaaggttgga aaactacgtt agagaggatt agagagagag gatgagcaat
300
10 cgtgtagtca gcccttgccct cctagtgtag gatttgtctc agccactgct tgtgtctctg
360
gctgccaaag ttctcatgaa ggctgttctt ctatcagtgt gtcaacctga acaagctaga
420
acccatagca acagaagtct ggctcatcaa caagtccatg gagctgctgg atgagaggaa
15 480
gttctgggct ggtatttgtt tcaactggaat tactccaggc agcattgagc tgcccatca
540
tgtcaagtac aagatccgaa tggacattga caatgtggag aggacaaata aaatcaagga
600
20 tgggtaagtg gaatcccatc acaccagcct ggtcttgggg aggtccagag cacctattat
660
attaggacaa gaggtacttt attttaacta aaaatttggg agaaatttca acaacaacaa
720
aaaaactcaa ctgtgtgtca tgattttggt gaaattggta catgacttgc tgggaaggttt
25 780
ttcataggtc ataaaataac agtatctttt gatttagcat ttctactcaa gggaattaat
840
tccaggaatt ttggtggcag gcacctgtaa tcccagctac tcgggaggct gaggcaggag
900
30 aattgcttga acccaggagg cagagggtgc agtgagctaa gatcgcatca ttgcactccc
960
gcctgggcaa taagagtga actccatctc aaaaaaaaaa aaagatacaa aaatagaaaa
1020
aggggcttgg taagggtagt aggggttttg gcaatttttt tttttttttt tttttattgt
35 1080
atggttctaa aggaatggtt gattacctgt ggtttggtt taggtactgg gacctggtc
1140
ctcgagctga cccctttgag gacatgcggt acgtctgggg gggcttcgcc tacttgagg
1200
40 atgtggtgga gcaggcaatc atcagggtgc tgacgggcac cgagaagaaa actggtgtct
1260
atatgcaaca gatgccctat ccctgttacg ttgatgacat gtaagttacc tgcaagccac
1320
tgtttttaac cagtttatac tgtgccagat gggggtgtat atatgtgtgt gcatgtgcat
45 1380
gcatgtgtga atgatctgga aataagatgc cagatgtaag ttgtcaacag ttgcagccac
1440
atgacagaca tagatatatg tgcacacact agtaaacctc tttccttctc atccatggtt
1500
50 gccactttta tctttttatt tttatttttt tttttgagat ggagtctcgc tctgacgccc
1560
aggctggagt gcagtggctc gatctcggtt cactgcaacc tttgcctccc gggttcaagg
1620
tattctctg cctcagcctc cacagtagct gggactacag gctcatgctg ccacgcccgg
55 1680
ctgacttttt gtattttagt agagacgagg ttccaccatg ttaccaggc tagacttcaa
1740
ctcctgagct caggcaatcc accctccttg gcctcccaaa gtgctgggat tacaggtgtg
1800
60 agccactgca ccagagccac cactttaatt ttttactc tacccttttg gtcaaaattt
1860
gctcaatctg caagcttaaa atgtgtcatg acaaacacat gcaagcacat actcacacat
1920
agatgcagaa acagcgtcta aacttataaa agcacagttt atgtaaatgt gtgcacttct
65 1980
tctccctagg tggtaaacca cttttcaaaa caaccctaat aaaactgaac aaagcttctt
2040

cctcttagac tttttagaaa atctttcagt gctgagtcac taagctgcca agttctcatt
 2100
 gtgggaacta tgcctttgga tgtaatgatt tcttctaaga caatgggcgg aggtgtagtt
 2160
 5 attgcagaca tctgaaatat gtaatgttcc ttccagattc tggaaattct cttattctct
 2220
 gtggttggtg gtggtggtg gatgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg
 2280
 10 tagggatcag gatgcgggag gagctgggtt ctgcttgat tggttctctg ttttgacattg
 2340
 aatagtgtgt ttccttgat ggctatctat agcttttcaa ggtcaccaga aattatcctg
 2400
 tttttcacct tctaaacaat tagctggaat ttttcaaagg aagactttta caaagacccc
 2460
 15 taagctaagg tttactctag aaaggatgtc ttaagacagg gcacaggagt tcagaggcat
 2520
 taagagctgg tgctgttgt catgtagtga gtatgtgcct acatggtaaa gctttgacgt
 2580
 gaacctcaag ttcaggggtc aaaatctgtg tgccttttta ctttgacat ctgcattttc
 2640
 20 tattctagct tggaaatctga aacattgaca agagctgcct gaaatgtatg tctgtggtgt
 2700
 gattagagtt acgataagca agtcaatagt gagatgacct tggagatgtt gaacttttgt
 2760
 25 gagagaatga gttgtttttt tgttttggtt tttagtactt taacataatc tacctttagt
 2820
 ttaagtatcg ctacacagtt cctagtact gaagcaagcc cccaaagaaa tttggtttgg
 2880
 caacactttg ttgcctcgt ttttctctct acattgcatt gctcgtgaag cattggatca
 2940
 30 tacgtacatt tcagagtcta gagggcctgt ccttctgtgg ccagatgtg gtgctccctc
 3000
 tagcatgcag gctcagagcc cttggcccat caccctggct cactgtgtgc tttctttctc
 3060
 35 cccttgctct tccttggggc ctccagcttt ctgcggtga tgagccggtc aatgcccctc
 3120
 ttcattgacg tggcctggat ttactcagt gctgtgatca tcaagggcat cgtgtatgag
 3180
 aaggaggcac ggctgaaaga gaccatgcgg atcatgggcc tggacaacag catcctctgg
 3240
 40 ttttagctgt tcattagtag cctcattcct cttcttgtga gcgctggcct gctagtgtgc
 3300
 atcctgaagg taaggcagcc tctctgctc ttccctgcca ggaaactccg aaatagctca
 3360
 45 acacgggcta agggaggaga agaagaaaaa aaatccaagc ctctggtaga gaaggggtca
 3420
 tacctgtcat ttctgcaat ttcatccatt tatagttggg gaaagtgagg ccagagagg
 3480
 ggcagtgact tgcccaaggc caaccagcc gggtagcagc taagtaggat gagagtgcag
 3540
 50 ggttcatgct ttccagataa ccacatgctc aactgtgcca tgcgtctca ttggtagtgg
 3600
 ttcattggcag catctgaaag ctatttattt tcttagatat attgggtggc gattcttctc
 3660
 55 aagtttctaa gaacaataat cagaaggata tatattgttg caggtagac tgtctggaag
 3720
 cagaggctga aatagagttt gatgtatggg tatttatgag ggctcaatac ctatgaagag
 3780
 atatggaaga tgcaggattg ggcagaggga ggagtgaac tgtgatatag ggccaacccc
 3840
 60 gtggggcact ctanagaata tgcagcttgt tggagttgtt ntcatcgag ctgaaacatc
 3900
 cagccctttg tgctcccca aggcctccct cctgacacca cctacctcag ccctctcaat
 3960
 65 caatcactgg atgtgggctg ccctgggaag gtcgtgcccc agggcctaca tggctctctg
 4020
 ctgctgtgac aaaccagag ttgctgatgc ctgaggccgt ctactgacag ctgggcaaca
 4080

4140 aggccttcctt gaatggggac tctgggcagt gcagttttgt gtctgaacca tacattaata
 4200 tatttatatc cgaattttct ttctctgcaa gcatttcata taaagacaca tcaggtaaaa
 5 ataaatgttt ttgaagcaaa aggagtacaa agagataaga actaactaat ttaatactag
 4260 ttaccatctg ttacaaatag ttctactga ttgccaagga ctgttttaac acatcacatg
 4320 ggcttcttct tctatcctca ctaacccttt taacagacaa ggaaatgagg ctcaggaagg
 10 4380 tcaaggactt tattgaggtt ccacagtagg atacagttct tgctaaaagc aaccctcccc
 4440 tcatgctctg ttatctaact gcaaggggaa ggtcagtggc agaggtagtg gtcccatggt
 4500 15 tggcgcataa gagctgctct gagacaactg catgctggtg ggtcctgcag acatgtacce
 4560 atcagccgga gataggctca aaatatccac aagagtttgg atgattgtgg gaatgcagaa
 4620 tccatggtga tcaagaggga aagtcaagtt gcctggccat tttccttggc ttttagacag
 20 4680 aaaagttacg tgggatatta tctccacag ctcttctgtg gtgccaccag tcatagtctt
 4740 tatataagga gaaaccagtt gaaattacct attgaagaaa caaagagcaa actcgccac
 4800 25 tgaatgcgt agaaagccct ggactctgtt gtattcataa ctctgccatt atttttctgc
 4860 gtagttttgg gtaagtcact tatcttcttt aggatggtaa tgatcagttg cctcatcaga
 4920 aagatgaaca gcattacgcc tctgcattgt ctctaactg agtaggaata aaccctgtct
 30 4980 tttttctgta gatcatacaa gtgagtgtct gggattgttg aggcagcaca ttgatgtgt
 5040 ctcttcttc ccagttagga aacctgctgc cctacagtga tcccagcgtg gtgtttgtct
 5100 35 tcctgtccgt gtttctgtg gtgacaatcc tgcagtgtct cctgattagc acactcttct
 5160 ccagagccaa cctggcagca gcctgtggg gcacatcta ctacagctg tacctgccct
 5220 acgtcctgtg tgtggcatgg caggactacg tgggcttcac actcaagatc ttcgctgtga
 40 5280 gtacctctgg ctttcttca gtggctgtag gcatttgacc ttcctttgga gtcctgaat
 5340 aaaagcagca agttgagaac agaagatgat tgtcttttcc aatgggacat gaaccttagc
 5400 45 tctagattct aagctcttta aggtaaggg caagcattgt gttttattaa attgtttacc
 5460 tttagtcttc tcagtgaatc ctggttgaat tgaattgaat ggaatttttc cgagagccag
 5520 actgcattct gaactgggct ggggataaat ggcattgagg aatggcttca ggcaacagat
 50 5580 gccatctctg ccctttatct cccagctctg ttggctatgt taagctcatg acaaagccaa
 5640 ggccacaaat agaactgaaa actcttgatg tcagagatga cctctcttgt cttccttgtg
 5700 55 tccagtatgg tgttttgcct gagtaatgtt ttctgaacta agcacaactg aggagcaggt
 5760 gcctcatccc acaaattcct gacttggaca ctctcttccc tcgtacagag cagggggata
 5820 tcttggagag tgtgtgagcc cctacaagtg caagttgtca gatgtcccca ggtcacttat
 60 5880 caggaaagct aagagtgact cataggatgc tcctgttgcc tcagtctggg cttcataggg
 5940 atcagcagcc ccaaacaggc acctctgatc ctgagccatc cttggctgag cagggagcct
 6000 65 cagaagactg tgggtatgcg catgtgtgtg ggggaacagg attgctgagc cttggggcat
 6060 ctttggaaac ataaagtttt aaaagtttta tgcttctactg tatatgcatt tctgaaatgt
 6120

ttgtatataa tgagtggta caaatggaat cattttatat gttacttggg agcccaccac
 6180
 tcccctaaag ggactctata ggtaaatact acttctgcac cttatgattg atccattttg
 6240
 5 caaattcaaa tttctccagg tataatttac actagaagag atagaaaaat gagactgacc
 6300
 aggaaatgga taggtgactt tgccctgttc tcacagagcc tgctgtctcc tgtggctttt
 6360
 10 gggtttggct gtgagtactt tgcccttttt gaggagcagg gcattggagt gcagtgggac
 6420
 aacctgtttg agagtctgt ggaggaagat ggcttcaatc tcaccacttc ggtctccatg
 6480
 atgctgtttg acaccttcct ctatggggtg atgacctggt acattgaggc tgtctttcca
 6540
 15 ggtacactgc tttgggcate tgtttgaaa atatgacttc tagctgatgt cctttctttg
 6600
 tgctagaatc tctgcagtgc atgggcttcc ctgggaagtg gtttgggcta tagatctata
 6660
 20 gtaaacagat agtccaagga caggcagctg atgctgaaag tacaattgtc actacttgta
 6720
 cagcacttgt ttcttgaaaa ctgtgtgcca ggcagcatgc aaaatgtttt atacacattg
 6780
 cttcatttaa ttctcacaag gctactctga agtagttact ataataacca gcaattttca
 6840
 25aatgagagaa ctgtgactca aagacgttaa gtaaccagct ttggtcacac aactgttaaa
 6900
 tgttggtacg tggaggtgaa tccacttcgg ttactctggg tcaataagcc caggcgaatc
 6960
 30ctcccaatgc tcaccaatt ctgtatttct gtgtcctcag agggggtaca actaggagag
 7020
 gttctgtttc ctgagtacag gttgttaata attaaatata ctactctaa ggcctgcctg
 7080
 tgatttaatt agcattcaat aaaaattcat gttgaatttt tcttttagtac ttctttctta
 7140
 35atataatata tcttcttgac caagtccaag aggaacctgc gttggacagt ttcatatga
 7200
 gatcaaatc tgagagagca agatttaacc ctttttgggt cacttctga tccctcccta
 7260
 40aggaggtata catgaaatat ttattactcc tgccctgaact tctttcattg aatatgcaat
 7320
 tttgcagcat gcagattctg gatttaaat ctgagtctta acttactggc tgagggacct
 7380
 tggataggct ccttatccct cagtttctc atctctaaaa tggggatggc acctgccccg
 7440
 45tgggttgggt gaaggactta cagaggtgca gaatgtacgt tgtacatagc aggtttcagc
 7500
 aaatgttagc tccctctttc cccacatcca ttcaaatctg ttccttctcc aaaggatgtg
 7560
 tcaaggagga aatggacctg gctgggaaac cctcagaata ctgggatgat gctgagcttg
 7620
 50gctcatacct gtgctttgct ttcaggccag tacggaattc
 7660

55 <210> 3
 <211> 1285
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

60 <400> 3
 gaattccag gccctggtat tttncttgca ccaagtccta ctggtttggc gaggaagtg 60
 atgagaagag ccacctgggt tccaaccaga agagaatatc agaaagtaag tgctgttgac
 120
 ctctgtctct ttctttaacc tagtgtgct gectctgcta actgttgggg gcaagcgatg
 180
 65 tctcctgcct ttctaaaaga ctgtgaaacc actccagggg cagagaaatc acatgcagt
 240

tccctttcca aatcctccca tgccatttat gtccaatgct gttgacctat tgggagttca
 300
 cgggtctcgat ccttgagggga ctttttcttt gttgtcttgg cttctagaag agtatctttt
 360
 5 acttgccccc tcccaaacac acatttcatg gtctcctaac aagctagaag aaagaggtaa
 420
 agacaagcgt gattgtggaa ccatagcctc gctgcctgcc tgtgacatgg tgacctgtgt
 480
 atcagcctgt gtgggctgag accaagtggc taccacagag ctcagcctat gcttcataat
 10 540
 gtaatcatta cccagatccc taatcctctc ttggctctta actgcagaca gagatgtcca
 600
 cagctcatca aaggctctgc cttctgggtt ctttgtgctt agagtggctt cctaaatatt
 660
 15 taataggtec cttttctgcc agtctcttct gtgccatcc cctgattgcc cttggtaaaa
 720
 gtatgatgcc ccttagtgta gcacgcttgc ctgctgttcc taatcatctt ctctacctc
 780
 ctctttacac ctagctctcg ttccagtcac ctagaaatgc tcacagtcgc tggaaatagt
 20 840
 catgttcttc cacacctcca tgcctttgta ggtactgttt gctctcacag gagaacttct
 900
 tctctaactt gcctatcttc tcaactcctc ctttctctcc aagatctagt tccggatccc
 960
 25 ctcccctgag catccctcct tggttctcag gtagtcagtc actctctgcc ctgaacttcc
 1020
 atggcacgtg aaagaaaatc tttttatttt aaaacaatta cagactcaca agaagtaata
 1080
 caaattacat gaggggggtc ccttaaacct ttcattccagt ttcccgaatg gtagcagcat
 30 1140
 gtgttaactgt agaatagtat caaaacccatg aaattgacat aggtacaatt cacaacctt
 1200
 cttcagattt cactagcttt atgtgcgctc atttgtgtgt gtgtgtgcgt atttagttct
 1260
 35 atgcaatttt atcatgtgtg aattc
 1285

<210> 4
 40 <211> 1521
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 45 gatccctggg ccaaggggaag gagcacatga ggagttgccg aatgtgaaca tgttatctaa 60
 tcatgagtggt ctttccacgt gctagtttgc tagatgttat ttcttcagcc taaaacaagc
 120
 tggggcctca gatgaccttt cccatgtagt tcacagaatt ctgcagtggg cttggaacct
 180
 50 gcagccacga aaagatagat tacatatgtt ggagggagtt ggtaattccc aggaactctg
 240
 tctctaagca gatgtgagaa gcacctgtga gacgcaatca agctgggcag ctggcttgat
 300
 tgccttccct gcgacctcaa ggaccttaca gtgggtagta tcaggagggg tcaggggctg
 360
 55 taaagcacea gcgttagcct cagtggcttc cagcacgatt cctcaacct tctaaccatt
 420
 ccaaagggta tatctttggg ggttgacatt ctttctctgt tttcttttta atctttttt
 480
 60 aaaacataga attaatatat tatgagcttt tcagaagatt tttaaaaggc agtcagaaat
 540
 cctaactacct aacacaaaaa ttgtttttat ctttgaataa tatgttcttg tttgtccatt
 600
 ttccatgcat gcgatgttag gcatacaaaa tacatttttt aaagaatact ttcattgcaa
 65 660
 attggaaact tcgttttaaaa aatgctcata ctaaaattgg catttctaac ccataggccc
 720

actttagtatt atttaccgaa gcaaaaggac agctttgctt tgtgtgggtc tggtaggggtt
780
cattagaaag gaatgggggc ggtgggaggg ttggtgttct gttctctctg cagactgaat
840
5 ggagcatcta gagttaagg taggtcaacc ctgacttctg tacttctaaa tttttgtcct
900
caggtaaatc ctgaccgggt tgttcccccc gacctcgggc accgcctaca tctgggaaa
960
10 agacattcgc tctgagatga gcaccatccg gcagaacctg ggggtctgtc cccagcataa
1020
cgtgctgttt gacatgtgag taccagcagc acgttaagaa taggcctttt ctggatgtgt
1080
gtgtgtcatg ccatcatggg aggagtggga cttaagcatt ttactttgct gtgtttttgt
1140
15 tttttctttt tttctttttt atttttttga gatggagtct cgtctgttag ccaggctgga
1200
ctgtagtggc gcgatctcgg ctactgcaa ccttggcctc ccaggttcaa gcgattctcc
1260
tgcctcagcc tcccagtag ctgggactct aggcacacac caccatgccc agctaatttt
1320
20 tgtgttttta gtagagacgg ggtttcacca tgttgccag gatggtotca atgtcttgac
1380
ctcgtgatcc gccacacctg gtctccaaa gtgctgggaa cacaggcatg agccactgtg
1440
25 tctggccaca ttttactttc ttgaaatag gcaggctcac ctccgtgaac accttgagac
1500
ctagttgttc tttgatttta g
1521
30
<210> 5
<211> 6519
<212> ADN
<213> Homo sapiens
35
<400> 5
gaaattgaaa gttgtaactg cctgggtgcat ggtggccagg cctgctggaa acaggttgga 60
agcgatctgt cacctttcac ttgatttcc tgagcagctc atgtggttgc tcaactgtgt
120
40 tctacctga atcttgaaga ttatttttca gaaattgata aagttatttt aaaaagcacg
180
gggagagaaa aatatgcca ttctcatctg ttctgggcca ggggacactg tattctggg
240
tatccagtag ggcccagagc ttgacctgcc tccctgtccc caggctgact gtcgaagaac
300
45 acatctggtt ctatgcccgc ttgaaagggc tctctgagaa gcacgtgaag gcgagatgg
360
agcagatggc cctggatgtt ggtttgccat caagcaagct gaaaagcaaa acaagccagc
420
50 tgtcagggtg ggcccagagc taccttccct atccctctcc cctcctctc cggctacaca
480
catgaggagg aaaatcagca ctgccccagg gtcccaggct ggggtcgggt ggtaacagaa
540
acttgtccct ggctgtgccc ctaggctcct tgccttcaact cactgtctgg ggctgtcct
600
55 ggagtttgtc ttgctctgtt tttttgtagg tggaatgcag agaaagctat ctgtgcctt
660
ggcctttgtc ggggatcta aggttgcct tctggatgaa cccacagctg gtgtggacct
720
60 ttactccgc aggggaatat gggagctgct gctgaaatac cgacaagggt cctgatgtgt
780
atttattctg agtaaagga ctgagagaga gcggggggct tttgagaagt gtggctgtat
840
ctcatggcta ggcttctgtg aagccatggg atactcttct gttatcacag aagagataaa
900
65 gggcattgag actgagattc ctgagaggag atgctgtgtc tttattcatc tttttgtccc
960

caacatggtg cactaaatct atggttagtt gaaagggtg atgcttaa at gaatggaagc
1020
ggagaggggc aggaagacga ttgggtctctc tggtagaga tctgatgtg tacagtatga
1080
5 ggagcacagg caggcttga gccaaactctg gctggccctg agacattggg aaagtcacaa
1140
cttgccctcac cttctttgccc gataataata gtggtgctta cctcatagag gattaaatta
1200
10 aatgagaatg cacacaaacc acctagcaca atgcctggca tatagcaagt tcccaataa
1260
aatgctactg ttcttacctc tgtgaggatg tggtagctat atatacaag ctttgccatt
1320
ctaggggtca tagccatata gggtgaaagg tggcttccag gtctcttcca gtgcttacc
1380
15 ctgctaata ctctctagtc cctgtcactg tgacaaatca gaactgagag gcctcacctg
1440
tcccacatcc ttgtgtttgt gcctggcagg ccgcaccatt attctctcta cacaccacat
1500
ggatgaagcg gacgtcctgg gggacaggat tgccatcatc tcccatggga agctgtgctg
20 1560
tgtgggctcc tccctgtttc tgaagaacca gctgggaaca ggctactacc tgaccttgg
1620
caagaaagat gtggaatcct cctcagttc ctgcagaaac agtagtagca ctgtgtcata
1680
25 cctgaaaaag gtgagctgca gtcttgggtg tgggtggtg ttgggtctg gcagccagga
1740
cttgctggct gtgaatgatt tctccatctc caccctttt gccatgttga aaccaccatc
1800
30 tccctgtctc gttgcccctc tgaaatcata tcatacttaa ggcatggaaa gctaaggggc
1860
cctctgtctc cattgtgcta gttctgttga atcccgtttt ccttttctta tgaggcacag
1920
agagtgtg agaggtcct tagaggacat tattatgtca aagaaaagag acttgtcaag
1980
35 aggtgaagag cttggctaca aatgacctgg tgttctctgt cattactttt caatctcatt
2040
gaccttaact tttaaactat aaaacagcca atatttatta ggcactgatt tcatgccaga
2100
gacactctgg gcatgaaaga aagtaatgat aatagtta at tttatatagc gttgttacca
2160
40 tttacaacct tttttttttt ttttaacctc atcatctcaa ttaaagtga gagagacct
2220
gggaagaagg taactatatt tattatccca gatgaggga gtgaggcttg tagggaattg
2280
45 gtagctgatt caaggtcacc cagcaggtaa ataacagtgg tgggaccaga cccaattacc
2340
aggtagttt tccctctgtac cgcagtacat gcctgagatt tatttgtgtg ttgaagccag
2400
tggtacctaa tgtatttaca tcccaacctg aaactcctat ccacttattt acctttta
50 2460
gagcctctta actcaagtgc agtctgagga ccagcagcat caggatcact tgggaactg
2520
ttagaaattc agcaacctgg gccagctca gacctaccga atcagaatct gtgcatttta
2580
55 acaaggttct tgagtgttg aacacacatt aaagcatgag aagcattgaa ctagacatgt
2640
agccaggtaa aggccttgcc tgagatggtt ggcaaaggcc tcattgcagc attcattggc
2700
aggccacagt tcttttggca gctctgcttc ctgacctttc accctcagga agcgaggctg
60 2760
ttcacacggc acacacatgc cagacagggt cctctgaagc cagggtgcc agtgcagtgt
2820
tcccaggga agctttttcc tttagttctc acacaacaga gcttcttga agccctcccc
2880
65 ggcaaagggt ctgggtggctc tgccttctc cgtccctgac ccgttctcac ctcttcttt
2940
gccatcagga ggacagtgt tctcagagca gttctgatgc tggcctgggc agcgaccatg
3000

agagtgcacac gctgaccatc ggtaaggact ctgggggttc ttattcaggt ggtgcctgag
 3060
 cttccccccag ctgggcagag tggaggcaga ggaggagagg tgacagaggct ggtggcgctg
 3120
 5 actcaaggtt tgctgctggg ctggggctgg gtggctgcgg gtgtgggagc agcttggtgg
 3180
 cgggttggcc taatgcttgc tggggtgcct ggggctcggt ttgggagcta gcagggcagt
 3240
 10 gtcccagaga gctgagatga ttgggggttg gggaaatccct taggggagtg gacactgaat
 3300
 accagggatg aggagctgag ggccaagcca ggagggtggg atttgagctt agtacataag
 3360
 aagagtgaga gccagggaga tgaggaacag ccttccagat ttttcttggg tagcgtgtgt
 3420
 15 aggaggccag tgtcaccagt agcatatgtg gaacagaagt cttgaccctt gctatctctg
 3480
 cctagtccta atggctggct ttcccagga aggccttctgc ttncatggac ngntagatta
 3540
 accctttatt taggtaaatg agggaaaccta ctttataagc ataggaaagg gtgaagaatc
 3600
 20 ttttaagatt cttttactca agttttcttt tgaagaatcc cagagcttag gcaatagaca
 3660
 ccagactttg agcctcagtt atccattcac ccatccacc acccaccac ccactcttc
 3720
 25 atcctcccat cctccattc acccatccac ccatccagct gtccacccat tctacactga
 3780
 gtacctataa tgtgctggc tttggtgata caaaggtgaa taagacatag tcttttctt
 3840
 30 tgcccccaac cctcagacca gagatgaaca tgtggaatga cctaaacacc tggaacaggt
 3900
 gtggtgtatg agcggcaggc ctctgatgag aggggtgggg atggccagcc ctcactccga
 3960
 agccctctg agttgattga gccatcttg cattctggc cctgcagatg tctctgctat
 4020
 35 ctccaacctc atcaggaagc atgtgtctga agcccgctg gtggaagaca tagggcatga
 4080
 gctgacctat gtgctgccat atgaagctgc taaggaggga gcctttgtgg aactctttca
 4140
 tgagattgat gaccggctct cagacctggg catttctagt tatggcatct cagagacgac
 4200
 40 cctggaagaa gtaagttaag tggctgactg tcggaatata tagcaaggcc aaatgtccta
 4260
 aggccagacc agtagcctgc attgggagca ggattatcat ggagttagtc attgagtttt
 4320
 45 taggtcatcg acatctgatt aatgttggcc ccagttagcc atttaagatg gtagtgggag
 4380
 atagcaggaa agaagtgttt tctctgtac cacagtacat gcctgagatt tgtgtgttga
 4440
 aaccagtggg acctaacaca ttacatccc aaccttaaac tctatgcac ttatttacc
 4500
 50 tttaatgagc ctctttactt aagtacagtg tgaggaacag cggcatcagg atcacttggg
 4560
 aacttgtag aaatcacgca acttggggcc agctcagacc tactgaatca gaatcaggag
 4620
 55 caattctctg gtgtgactgt gtcacagcca ggtatcaact ggattctcat acataggaaa
 4680
 tgacaaacgt ttatggatgg atagtctact tgtgccaggt gctgagattt gttttttgtt
 4740
 60 ttttgatttt tttttaatca ctgtgacctc atttaattct caaaaaaaga tgaaaaaatg
 4800
 aacactcagg aatgctgaca tgagattcag aatcaggggt ttggggcttc aaagtccatc
 4860
 ctctcttat ccatgtaatg cctccctta gagatacaac atcacagacc ttgaaggctg
 4920
 65 aaggggatat aaaagctgtc tggccaagtg gtctccaagc ttgacagtgc agcagaatca
 4980
 cctggggata ttattaaaaa taaacatact aagggttggc ttcagggcct gtgaatcaga
 5040

atttctggag gtgaggcctt gaagtctgta tttctattgc atactttgga cacagtggtc
 5100
 tatagactag agtttgaaa tgattgcgct cattcagatt ctcttctgat gtttgaattg
 5160
 5 ctgccatcat atttctagtgt ctctatttcc tctgtctcat tctgtcttgg ataaacttate
 5220
 atagtactag cctactcaaa gatttagagc cacagtcctg aaagaagcca cttgactcat
 5280
 10 tccctgtagg ttccagaataa atttcttctg cgcagtgtct gtcatagctt tttttaaatt
 5340
 tttttttatt ttgatgaga ctggagtttt gctcttattg cccaagctgg agtgcagtgg
 5400
 tgcgattttg gctcactgca acctccacct cccaggttca agcgattctc ctgcctcagc
 5460
 15 ctcccaagta gctgagatta caagcatgtg ctaccacgcc cagctaattt tgtattttta
 5520
 gtagagatgg gttttatcca tggtggtcag gctggctctg agctccagac ctcaggtgat
 5580
 20 ctgcccgcct cggccctcca aagtgtctggg attataggcc tgagccacag cgctcagcca
 5640
 taactttaat ttgaaatga ttgtctagct tgatagctct caccactgag gaaatgttct
 5700
 ctggcaaaaa cggcttctct cccaggtaac tctgagaaag tgttattaa aaatgtggct
 5760
 25 tctactttct ctgtcttacg gggctaacat gccactcagt aatataataa tctgtggcagt
 5820
 ggtgactact ctcgtaatgt tgggtcttat aatgttctca tctctctcat ttccagata
 5880
 ttccctcaagg tggccgaaga gagtgggggtg gatgctgaga cctcaggtaa ctgccttgag
 5940
 30 ggagaatggc acacttaaga tagtgccttc tgctggcttt ctcagtgcac gagtattgtt
 6000
 cctttccctt tgaattgttc tattgcattc tcattttagt agtgtaggtt tgttgagat
 6060
 35 ggggaaggtt tgttttgttg taaataaaat aaagtatggg attctttcct tgtgccttca
 6120
 gatggtacct tgccagcaag acgaaacagg cgggccttcg gggacaagca gagctgtctt
 6180
 cggccgttca ctgaagatga tgctgtgat ccaaatgatt ctgacataga cccaggtctg
 6240
 40 ttagggcaag atcaaacagt gtccactgtt ttgaatgtga aattctctct catgctctca
 6300
 cctgttttct ttggatggcc ttanccaag gtgatagatc cctacagagt ccaaagagaa
 6360
 45 gtgaggaaat ggttaaagcc acttggtttt tgcagcatcg ngcatgtnat caaacctgan
 6420
 agagcctatc catatcactt tnccttaana gacattaaan atggntcctt aatctctttt
 6480
 gancccatg tatttattat tctttttctg cgggggtcc
 50 6519

<210> 6
 <211> 7378
 55 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 60 tctagaaaat ttttaggaac agaaaacttt ccagttctct caccctgct caaagagtgt 60
 atggctctta cattatatat aactgcctga cttcatacag tatcagtact tagatcattt
 120
 gaaatgtgtc cacgttttac caaaatataa taggggtaga agctgagatg ctaattgcca
 180
 ttgtgtattc tcaaatatgt caagctacgt acatggcctg ttccatagag tagtctataa
 240
 65 gaaattgatg acttgattca tccgaatggc tggctgtaac acctggttac gcatgaacac
 300

ctcttttcag ttgtctcaag acacctttct tttctgtact tatcagacaa ggactgaaag
 360
 gcagagactg ctactgttag acattttgag tcaagctttt ccttggacat agctttgtca
 420
 5 tgaagccct ttacttctga gaaacttcta gcttcagaca catgccttca agatagttgt
 480
 tgaagacacc agaagaagga gcatggcaat gccgaaaaca cctaagataa taggtgacct
 540
 tcagtgttg cttcttgag aatccagaga gacagacttg ctcagtggga tggatggcaa
 10 600
 agggctctac caggtgaaag gctggaaact tacacagcaa cagtttgttg ccttttgtg
 660
 gaagagactg ctaattgcc aacggagtcg gaaaggattt tttgctcagg tgagacgtgc
 720
 15 tgttttcgcc agagactctg gcttcatggg tgggctgcag gctctgtgac cagtgaaggc
 780
 aggatagcat cctggtaag atatggatgc cggagccaga tttatctgta tttcaatccc
 840
 agttctatc cttgccagtt gtgtatccgc tggcaagtta cttctctatg cctcaatctc
 20 900
 ctcactctga aaatggggat aataatatta cctgcaatac agggttgtta cgaaaataaa
 960
 aatgaatagg tgcttagaat ggggcctgac attagtaagt gcttagtttt gtgtgtgtat
 1020
 25 atgttatttt ttttttgag gagaacataa aaaggacaaa gtgtagaaaa actggttggg
 1080
 tgtattcagc tgctataaca tgagagttgt tatgccaga tgcacttgac atgtgaattt
 1140
 attagaaaca tgatttttct ctgagttgat gtttaactca aactgataga aaagataggt
 30 1200
 cagaatatag ttggccaaca gagaagactt gttagactat tgtctgcatg tcagtgtttg
 1260
 catgctaact tgcttagtta gaaaggttaa attttttcac tctataaaat caagaaatat
 1320
 35 agagaaaagg tctgcagaga gtctttcatt tgatgatgtg gatattgtta agagcgggag
 1380
 tttggagcat acagagctca agttgaatcc tgactttgct acttattggc tatatgacct
 1440
 tgggcaagct gcttagtctc tctgacctc agttaccttt gtttgttgat gatgaccatt
 40 1500
 gataacacaa ccataaataa tgacaacata gagatagttc tcattatagt agttgttata
 1560
 cagaattact cactcaatgt taattttctg cattgaaatc ccagaacatt agaattgggg
 1620
 45 gcattatttg aatctttaag gttataagga atacatttct cagcaataaa tggaggaggt
 1680
 tttgggttaa cttataaagt ataccgaagt catttttttt tcagagaaga tatggtagaa
 1740
 agtcttagga ggttgaagaa ggaattggat atttattctt tctgagacta tcatgggaga
 50 1800
 taatgactat ggttgtccat gattggagcc gttgctgtag agttggtttt attatagtgt
 1860
 aggatttgaa tgggccatgt gtctcagac ctcagattaa aatgagaaaa ctgaggccag
 1920
 55 tggggagcgt gacttcacat ggttacactt gtgctagaga cagaaccagg attcaggact
 1980
 tctgctcct ggtcctgggt tcatggcca atgtagtctt tctcagtctt caggaggagg
 2040
 aagggcagga ccagtggtc tgagtcaccc tgaatgtgag cactatttac ttcgtgaact
 60 2100
 tcttggtta gtgcctctgc cagggtggca taacctctgg ccttgtgttg ccagagaaaa
 2160
 ggtttagttt tcaggctcca ttgcttcca gctgccaaga atgccttggg gcagcacagt
 2220
 65 catagccct gcattcctca ttgccgtgct ggttggctcg ggaggtgggc tggactcgta
 2280
 gggatttgcc ccttggcctt gtttctaaca cttgccgttt cctgctgtcc cctgcccc
 2340

tccactgcct gggtaaagat tgtcttgcca gctgtgtttg tctgcattgc ccttgtgttc
2400
agcctgatcg tgccaccctt tggcaagtac cccagcctgg aacttcagcc ctggatgtac
2460
5 aacgaacagt acacatttgt caggtatggt tgtcttctac atcccaggag ggggtaagat
2520
tcgagcagac caaagatggt tacgagggcc aagggaatgg acttcagaat tacacggtgg
2580
aatgaatttt actgctgcgg ctccaggtccc tgtataagct aatactgcat gcatagaaca
2640
10 gcagcgaact aaccctgaat aataggccag tcttctgttg agcctttcag cctctctcct
2700
cttcactcta ctgttgctag gaacagccac atgtgtttta ggtgaaataa tccacccttg
2760
15 caaaaatcca tgattaagtt ataaaatatt tggatttgg gagctgtgtt ttaattctgt
2820
aactgagtca cagggcacac tgtcaaagca tagaacctcc agagacttgt tttctgcaaa
2880
gtataattca tgtaattatt atctattctg ttatatttgg gatgttaggt agtgtttggt
2940
20 ctttagataa aaatatcccc cactctgtaa caatacatta aatcaaagaa aaggacaaag
3000
gatttttctg ggtcttgta gcaggagctt tcttcagtc tgaaagattt gtagacctgt
3060
25 agatggggga actgtgtcag tgatacaaaa gggaagcatt taaaaaaaaa aagtatatat
3120
atatatatat atatattgaa tgtgaattgg cctctttttc tctaagccca cattttcttc
3180
ttacatagtt caggtttact ttattttttc ctttccggct gctgacctg tattgcccg
3240
30 agttgtggaa catagcatgt gtttgtgacc tgtgcctgtt atttttgtgc tttctagtgt
3300
tgcattgcaa gagtacaag ttttcttgcc ctttcttgga aaatcctgct tgtctgtgcc
3360
35 aaaggataa ttgtgaaagc acttttgaaa tacttaatga gttgattttc ttcaaatata
3420
aaaaaatata taaatgtatc tgtgtatgta catgtgtgta cacatacaca cttttatata
3480
tacagcccat ttaaaacaag ctccactttg gagtgctcta cgtcaccctg atgccgaata
3540
40 cagggccaga gtctgagatc cttctgggtg gtttctgtgt tttgttcatt tctgttttaa
3600
gagcctgtca cagagaaatg cttectaaaa tgtttaattt ataaaaacat ttttatctct
3660
45 cgattactgg ttttaatgaa ttactaagct ggctgcctct catgtacca cagcaatgat
3720
gctcctgagg acacgggaac cctggaactc ttaaagcccc tcaccaaaga ccctggcttc
3780
gggacccgct gtatggaagg aaacccaatc ccgtgagtgc cactttagcc ataagcaggc
3840
50 ttcttgtgct tgttgctggt tttgatttct aatatgctgc atttatcaac tgcattgccac
3900
attgtgaccg ccagcatttg ccctttgaat tattattatg ttttatttac aaaaagcgaa
3960
55 ggtagtaacc gaactaaatt atctaggaac aaacgtttgg agagtcttct aacaccgtgc
4020
aaagcacgtc attacagaca ttgtttact gatttagaac cttaatatat aatttaaata
4080
gcactttaca ctactgatg aaatgctttt ctttcttttc tctcccagcc cctgtactta
4140
60 agtgcttcaa taggctctca ttatatatga tttttagggt ttgcttatca gcttcttcgc
4200
ttttataatc tgaaaagatg gcatatgaat ttttataaaa agggacactt tcttcttctc
4260
65 aaattgtata tttttattgt actttccttc aaaacccctt tttaaaaagt aagcagtggg
4320
taaataaatt cagtgaagca tccatatgac ccttaagtga gtgtagggga agggagggtca
4380

ccagatcact gtgagtgaag atggtggaga ggtgaggatc ttatgaggcc gtgctcaagg
 4440
 ctggttagagg tgggttagtg tttccagggt taggcagaat ctgagctgag gtcattgaaac
 4500
 5 aacagtgtac tctgaaaaat tatggcaagg tgggaagggtg ctggagaatt ggagaggggg
 4560
 caaacttgac tttcaagttt caatgggaag ataggtgact ctgcacacca cagaacagtg
 4620
 10 agcatgataa cctgtttata caaggttcta gagcagatct ctaaattggat agctactgtg
 4680
 tgcttgtttg ttcttaatta gtattggata gttactaaat acttgttagt acttagtaca
 4740
 taatgggttg taaatcctag cagctaatat tggttcccaa ataaccagat gacaaggata
 4800
 15 gagaaggaca cagacacggc ctatctggat ttcattgtgc ctttcatttt ccacatgaag
 4860
 gttgtgtagg gaagatagaa gcatgagatg agatgataat atagttatct ggattcatca
 4920
 ctggccagct gaaccatag aactcatgga ttgatgctag cttaggaagg ctctgttaga
 4980
 20 gccagaactg ggctgagagc cagcccatag agacaaaaga ggcccgcccc tgacatcaga
 5040
 gggttcaaac atgatgtctg agccccacct acagtctgcc ggaggtggtt ggaaggaga
 5100
 25 gcctttatcc ttacaattct tactgaaatt caaattttta ggttttgcaa aaaaatggtg
 5160
 gacctgaagg aaatttgaca ggagcatgtc tcagctgtat ttaattttgt ctgaccaat
 5220
 cccctttga atgttcagag tgtaagcttc aggagggcag cgcgtcttag tgtgactttt
 5280
 30 ctggtcagtt caggtgcttt aaggagacaa ttagagatca atctggaaaa cttcatttga
 5340
 atttttaata cataagaaaa caataagaaa tagttaaaaa tatatattta taatatatat
 5400
 35 atgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtatatatat atattttatt tatttttttt
 5460
 tttttgagat ggagtctcgc tctgttgccc aggcctggagt gcagtggctc aatcttggtc
 5520
 cactgccacc tctgcctccc aggttcaagt gattctccta cctcagcctc ctgagtagct
 5580
 40 gggattacaa gcatgtgcca ccacactggc taatttttct aatttttagta gagatggagt
 5640
 ttcaccatgt tggacaggat ggtcttgaac tcctgactta gtgatccacc cgccttcgcc
 5700
 45 tcccagggtt ctgggattac aggcattgag catcgtgcct ggcaattata tttaatattt
 5760
 aataataagg aaataattgc tgtaacttta ctttaaatgt tggattctg aaactggaag
 5820
 50 ggaactggaa atgacttggt gaatcaaatc attttaaaact tttattttgc cagtggaaaa
 5880
 aataagcccc caaaagagca ggggacctgc tgatgtccca cagtaattca gagctggaga
 5940
 tgagggtgaa ggcttttgtg ctatctcca gggaaaattt gtagacagcg tagctcttta
 6000
 55 tgtgacgagc attctcacc cagtcacccc ccaattctct actcatttga gaacataaat
 6060
 tggatcttgc cagtctctac tcatttttca gcacatcgag cataagatcc agactctttc
 6120
 ccaggcctct ctcatctggc tcctctctc ctcctttatc attactcttc ttcgtagctt
 6180
 60 atcctactcc agccatgctg tcttctatt attcctaaaa agtagaaatg catttcttcc
 6240
 tagggccttt gtacctgcac ttgccatcgc ttttgctcag aatgttcttt ttgccaagct
 6300
 65 tttgcccage ttgttctcca tcattgttat gttttggctg aaatgtcttc tcttagtagg
 6360
 ttcattctcc ccagtcactg tctttttatt ttgctttatt ttgggccatc taaggttatc
 6420

ttattagtgt atttgttgtt cgtctcctcc atgggcatac acctccatga aggcagggtat
 6480
 tttcacctta ggccctcgaata tttactggac agcatctggc acgtagtaga tgctcaacga
 6540
 5 atgtttgttg tgtgagcaaa tgggttggtt atttgattga actgagttca gtatgtaaa
 6600
 atttagggcc tctttgcatt ctattttact tatgtataaa atgatacata atgatgatat
 6660
 10 aaatgatgtc acagtgtaca aggctgttgt gggatcaagc aatcaaata gaatcatgctt
 6720
 gtcttttcca aatggtgagg gaatagatgc atgtttgttg ttgttacgga atgatcctgt
 6780
 gctcctgagg caacagaaag gccaggccat ctctggtaat cctactcttg ctgtcttccc
 6840
 15 tttgcagaga cagccctgc caggcagggg aggaagagtg gacactgcc cagttcccca
 6900
 gaccatcatg gacctcttcc agaattggaa ctggacaatg cagaaccctt cacctgcatg
 6960
 20 ccagtgtagc agcgacaaaa tcaagaagat gctgcctgtg tgtccccag ggcaggggg
 7020
 gctgcctcct ccacaagtga gtcactttca ggggtgtgatt ggcagaaagg ggtgcaggat
 7080
 gggctggtag ctctcgcttg gaagcaggaa tgagttagat atcatgttg gagggtctgt
 7140
 25 ttcagtcctt tttgtttttt gttttttttt ctgaggcgga gtcttgcctt gtcgccagg
 7200
 ctggagtgtc gtggcatgat ctgcctcac tgcaacctcc acctcccagg ttcaagcat
 7260
 tctcctgctt cagcctcctg agtagctggg attacaggca cgcaccacca tgtctggcta
 7320
 30 atttttgtgt ttttagtaga gatagggtt cgcctgttg gctaggctgg tctggaat
 7378

 35 <210> 7
 <211> 5689
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 40 <400> 7
 gaattcctga cctcaggtag tccaccgcc tggcctccc aaagtgttg gattacaggc 60
 gtgagccact agccccagcc ctgtttcagt ctttaactcg cttcttgtca taagaaaaag
 120
 catgtgagtt ttgaggggag aaggtttga ccacactgtg cccatgcctg tcccacagca
 180
 45 gtaaaagtcac aggacagact gtggcaggcc tggcttccaa tcttggctct gcaacaaatg
 240
 agctggtagc ctttgacagg cctgggcttg tttcttcacc tctgaattag ggaggctgga
 300
 50 ccagaaaact cctgtggatc ttgtcaactc tggatttctt agagactctg tttgggaagg
 360
 agtctgagc catttttttt ttcttgagaa ttccaggaa aggagtgtt atgatagctc
 420
 tctgctgctt ttatcagcaa ccaaattgca ggtgaggac aagcaattct aatgagtagc
 480
 55 aggaactaaa agaaggcttg gttaccactc ttgaaaataa tagctagtcc aggtgcgggg
 540
 tggctcacac ctgtaatctc agtatttttg gatgccagg tggactgatc acctaaaggtc
 600
 60 aggagttcga aaccagcttg gccaatgttg cgaaacctg tctctactaa aaattcaaaa
 660
 attagccagg catggtggca catgcctgta atcccagtt cttgggaggc tgaagcaggga
 720
 gaattgcttg aacctgggag gtggaggtcg caggagacca aaattgcgcc actgtactcc
 780
 65 agcctgagca acacagcaaa actccatata aaaaaataaa atgaataaaa taacagctaa
 840

tctagtcatc agtataactc cagtgaacag aagattttatt aggcatagtg aatgatgggtg
900
cttcctaaaa atctcttgac tacaaagaat ctcatattcaa tgtttattgt ttagatgttc
960
5 agaataaatt cttgggaaag accttggcctt ggtgtaagtg aattaccagt gccgagggca
1020
gggtgaacca agtctcagtg ctggttgact gagggcagtg tctgggacct gtagtcaggt
1080
ttccggtcac actgtggaca tggtcactgt tgccttgat ttgttttctg tttcaattct
1140
10 tgtctataaa gacccttatg cttggtttct atgtgatgac agagaaaaca aaacactgca
1200
gatatccttc aggacctgac aggaagaaac atttcggatt atctggtgaa gacgtatgtg
1260
15 cagatcatag ccaaaagggtg actttttact aaacttggcc cctgccgtat tattactaat
1320
tagaggaatt aaagacctac aaataacaga ctgaaacagt gggggaaatg ccagattatg
1380
gcctgattct gtctattgga agtttaggat attatcccaa actagaaaag atgacgagag
1440
20 ggactgtgaa cattcagttg tcagcttcaa ggctgaggca gcctggctca gaatgaaaat
1500
agaaatggat tcaacgtcaa attttgccac ttagtagcaa cttgaccagg taactggtta
1560
25 tcctttttaa gccttagttt atctaaattg tgatattaat gttgctctta taagtttgc
1620
atgaggacta aattaaatgg tgtacataga gtgccttggg tactctctga tgggggactc
1680
catgataatt tgtggtctca tggagggagc tctgggaagg tttaggagcc tgccttggct
1740
30 ctgcagcctt gggagagcct tctagcttcc caggacatgg cagcctagtg ttgaatgctt
1800
ggctcagcaa atgtttgttc tcgtttcctt cccatcaact tggtcagttg gggcttttca
1860
35 gttaggagta tctcagtgac tttaaatggc atgggcatgc tggagtgata gtgaccatga
1920
gtttctaaaga aagaagcata atttctccat atgtcatcca caattgaaat attattgtta
1980
attgaaaaag cttctaggcc aggcacggtg gctcatgcct gtaatcccag cacttttagga
2040
40 ggccaaggcg ggtggatcac ttgaggtcag gagtttgaga ccagcctggc caacatgggg
2100
aaaccctgtc tctactaaaa atacaaaata agctgggctg ggtggtgctg gcctgtaatc
2160
45 ccagctactt gggaggctga ggcaggagaa ttgcttgaat ctgggaggcg gaggttgag
2220
tgagctgagt tcatgccatt gcattccagc ctgggcaaca agagcgaaac catctcccaa
2280
aagaaaaaaa aaagaaagaa aaagcttcta gtttggttac atcttggctc ataagggtgt
2340
50 ttgtaaatg gtttaaccac aggcctggtt ctcatataag taatagggtta tttatgatgg
2400
agagaaggct ggaagaggcc tgaacacagg cttcttttct ctagcacaac cctacaaggc
2460
55 cagctgattc tagggttatt tctgtccgtt ccttatatcc tcaggtggat atttactcct
2520
tttgcacat taggaatagg ctcaagtctt tctttgaact gattttttgt tcttttgcct
2580
ctgcagctta aagaacaaga tctgggtgaa tgagtttagg taagttgctg tctttctggc
2640
60 acgttttagct cagggggagg atggtgttgt aggtgtcttg gattgaagaa agccttgggg
2700
attgtttgtc actcacacac ttgtgggtgc catctcactg tgaggaggac agaagccctg
2760
65 tgaacatgtg gagcacacag gggcacagac agatttagat taggcctgct ttatagagtt
2820
tctgcctaga gcatcatggc tcagtgccca gcagcccctc cagaggcctc tgaaatattt
2880

gatatactga ttcccttgag gagaatcaga aatctcctgc aggtgtctag ggatttcaag
 2940
 taagtagtgt tgtgaggga atacctactt gtactttccc cccaaaccag attcccaggg
 3000
 5 cttcttaagg actcaaggac aatttctagg catttagcac gggactaaaa aggtcttaga
 3060
 ggaaataaga agcgccaaaa ccattctctt gcactgtatt tcaaccatt tgccttctg
 3120
 10 ggttttgaag gaacagggtg gactggggac agaagagttc ttgaagccag ttgtccatc
 3180
 atggaaaatg agataggtga tgtggctacg tcagggggcc cgaaggctcc ttgttactga
 3240
 ttcccgctct ttctctctgc cttttcccca agggccagga cccctggatc tctgggcaga
 3300
 15 gcagagcgag gccctataa tagccctcat gctagaaagg agccggagcc tgtgtataag
 3360
 gccagcgag cctactctgg acagtgcagg gttcccactc tcccaactcc ccattctgctt
 3420
 20 gcctccagac ccacattcac acacgagcca ctgggttggg ggagcatctg tgagatgaaa
 3480
 caccattctt tcctcaatgt ctgagctatc taactgtgtg tgtaatcagg ccaggctctc
 3540
 cctgctgggc agaaaccatg ggagttaaga gattgccaac atttattaga ggaagctgac
 3600
 25 gtgtaacttc tctgaggcaa aatttagccc tcctttgaac aggaatttga ctgagtgaac
 3660
 cttgtacaca ctgcactga gtctgctgct gatgatactg tgcacccac tgtctgggtt
 3720
 ttaatgtcag gctgttcttt taggtatggc ggcttttccc tgggtgtcag taatactcaa
 3780
 30 gcacttctc cgagtcaaga agttaatgat gccatcaaac aaatgaagaa acacctaaa
 3840
 ctggccaagg taaaatatct atcgtaagat gtatcagaaa aatgggcatg tagctgctgg
 3900
 35 gatataggag tagttggcag gtaaacgga tcacctggca gctcattgtt ctgaatatgt
 3960
 tggcatacag agccgtcttt ggcatttagc gatttgagcc agacaaaact gaattactta
 4020
 40 gttgtacgtt taaaagtga ggtcaaaaac aaatccagag gccaggagct gtggctcatg
 4080
 cctgtaatcc tagcactttg ggaggccgaa gcgggtggat cacttgaggt caggagtctg
 4140
 agaccagcct ggcctacatg acaaaacccc gtatctacta aaaatacaaa aaaattagct
 4200
 45 gggcttgggtg gcacacacct gtaatccag ctacttggga ggctgaggca ggagaattgc
 4260
 ttgaaccctg taggaagagg ttgtagttag ccaagatcgc accgttgac tccagcctgg
 4320
 gcaacaagag caaaactcca tctcaaaaaa caaattaaat ccagagattt aaaagctctc
 4380
 50 agaggctggg cgcggtggct tacacctgtt atcccagcat tttgggatgc cgaggcgggc
 4440
 aaagcacaag gtcaggagtt tgagaccagc ctggccaaca tagtgaaacc ctgtctctgc
 4500
 55 taaaaacata gaaaaattag ccgggcatgg tggcgtgcgc ctgtaatccc agctactcgg
 4560
 gaggctgagg tgagagaatt acttgaaccc gggaggcgga gggtgcagtg agcccagatt
 4620
 60 gcaccaactgc actccagcct gggcgacaga gcaagactcc atctcaaaaa aagctctcag
 4680
 aacaaccagg tttaaaaatt tggctcagttg gtaataaac tgggtttcaa acatactttg
 4740
 ctgaaacaat cactgactaa ataggaaatg aatctttttt tttttttttt aagctggcaa
 4800
 65 gctggctgtg aggacctgat aagtactcac ttcatttctc tgtgtctcag gtttccatt
 4860
 tttagggtgag aattaagggg ctctgataaa acagacccta ggattgtgga cagcagtgat
 4920

agtcctagag tccacaagtc tgcttttgag tgatgggccc atgtatctgg cacatctgca
 4980
 ggcagagcgt ggttctggct cttcagatga tgccgggtgga gcactttgag gagtcctcac
 5040
 5 cccaccgtga taaccagaca ttaaaatctt ggggctttgc atcccaggat ttctctgtga
 5100
 ttcttcttag acttgtggca tcatggcagc atcactgctg tagatttcta gtcacttggc
 5160
 tctcaggagc cgtttattta atggcttcac atttaatttc agtgaacaag gtagtggcat
 5220
 10 tgctcttcac agggccgtcc tgttgccac aggttcaga ttgactgttg ccccttatct
 5280
 atgtgaacag tcacaactga ggcaggtttc tgttgtttac aggacagttc tgcagatcga
 5340
 15 tttctcaaca gcttggaag atttatgaca ggactggaca ccaaaaataa tgtcaaggta
 5400
 aaccgctgtc tttgttctag tagctttttg atgaacaata atccttatgt ttcctggagt
 5460
 actttcaact catggttaaag ttggcagggg cattcacaac agaaaagagc aaactattaa
 5520
 20 ctttaccagt gaggcagtac ggtgtagtgt agtgattcag agaatttgct ttgccaccag
 5580
 acataccagg taacctgac taagttactt aacctatcta aacctcagtt cccctcatctg
 5640
 25 tgaatggag acagtaatca tagctatttc caaactgttg tgagaattc
 5689

 <210> 8
 30 <211> 645
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 8
 35 gaattcaatg agttaaggt ataaggtcct caccacagcg cctgcccaca tagtcagtga 60
 tcactatgtc ctgaacactg taattacttc gccatattct ctgatcatag tgttttgct
 120
 tggtagtgta ctagaatttc ttctgaggt ttatgggcat ggttgggtggg tatgcacctg
 180
 40 cctgcaggag cccggttttg gggcattacc ttgtacctgg tatgttttct ttcagggtgtg
 240
 gttcaataac aagggtggc atgcaatcag ctctttcctg aatgtcatca acaatgccat
 300
 tctccgggcc aacctgcaa agggagagaa ccctagccat tatggaatta ctgctttcaa
 360
 45 tcatccctg aatctacca agcagcagct ctgagagggt gctctgtaag tgtggctgtg
 420
 tctgtataga tggagtggg caaggagag ggttatggag aaggggagaa aaatgtgaat
 480
 50 ctcatgttag gggaacagct gcagagaccg ttatattatg ataaatctgg attgatccag
 540
 gctctgggca gaagtgataa gtttacgaat tggctggttg ggcttctga actgcagaag
 600
 agaaaatgac actgatatgt aaaaatcgta acatttagtg aattc
 55 645

 <210> 9
 60 <211> 1664
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 9
 65 gaattcatat aaagtgagtt caaaaattgt taattaaatt ataatttaata tataagtgtt 60
 taatcagttt gatttgttta aaaaccactg ttttaattt ggtggaatat gttttatta
 120
 gcttgatct ttaattccta aattaagctg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg
 180

240 tgtgtgtgtg aagtttaaag ccaggatgag ctagttaaag gtatgcagcc tttggagtca
 300 tacagatctg gggttgaatc tgggtctctaa actttataga tgtatgatat taaatgaggc
 5 agttcatgta aattgccaaag cccagcactc agcacagagt tgatatttca cacacattag
 360 atacctttcc tgtatgtgga gcatggcagt tctgtttct gctttactcc tacaggatac
 420 taatatagga cactaggatc tttataccaa gaccccatgt aatgggctta tgagaccatt
 10 480 cttcttataa aaatctgaca gaatttttgt atgtgttaga tcaataggct gcatactgtt
 540 attttcaagt tgatttacag ccagaaatat taatttattt gagtagttac agagtaatat
 600 ttctgtctctc atttagtttt caagccccac tagtcctttg tgtgtgaaaa tttacaactt
 15 660 actgctctta caaggctatg aacagtggac caaagtgaat gccattaacc actctgactt
 720 ccttcattag ttttattgtg acagtggact cttttgacct cagtaatacc agtttggcat
 20 780 ttacattgtc atatttttag acttaaaaaat gatcatctta accctgaata aaatgtgtct
 840 ggtgaacaga tgttttttct tgggctgtgc ctccagatate tctgtgtgtg gtgtacgtgt
 900 gtgtttgtct gtgtgtccat gtctcactg attgagccct agctgcatca aaagaccctt
 25 960 cagattttca cacgcttttt ctctccagga tgaccacatc agtggatgtc cttgtgtcca
 1020 tctgtgtcat ctttgcaatg tcttctgtcc cagccagctt tgtcgtattc ctgatccagg
 30 1080 agcgggtcag caaagcaaaa cacctgcagt tcatcagtgg agtgaagcct gtcactact
 1140 ggctctctaa ttttgtctgg gatattgtaa ggacacaggc ctgctgtatc tttctgatgt
 1200 ctgtcagggc catggattga tatggataag aaagaaagag ctctggctat catcaggaaa
 35 1260 tgttccagct actctaaaga tgtatgaaaa agaaatagcc agaggcaggt gatcactttc
 1320 atgacaccaa acacagcatt gggataccaga gttcatgtca caccagaggg aaaattctgt
 40 1380 acacaatgat gaaaattaat accactacca cttaagttcc tatgtgacaa ctttcccaag
 1440 aatcagagag atacaagtca aaactccaag tcaatgcctc taacttctct gatgggtttt
 1500 aacctccaga gtcagaatgt tctttgcctt actaggaaaag ccactctgtca tttgaaaact
 45 1560 ctgtacattt tatcagcagc ttatccatcc attgcaaata tgtttttgtg ccagccacaa
 1620 tatattgctt ctatttggac caataggggg atttgaagga attc
 50 1664

<210> 10

<211> 1279

55 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 10

60 gaattctcat aattgtccta tcgtcaagtc tttatttctg cattttactg cttgatacac
 120 tgtcaggaca gactttaaaa ttattctcag tgcgatgaaa caattctgac attcatgtta
 180 tgagcagtta cctcataaat agattacatg tgagattgaa cttgggcaga ctataatata
 240 gcattaatga cgaaacagac acagtcatct tcgggaagaa gaatagaggc ttatttctgt
 65 300 cctgtgaaat taaaattact ctgactggga atccatcgtt cagtaagttt actgagtgtg

acaccttggc ttgactgttg gaaagacaga aagggcattgt agtttataaa atcagccaag
360
gggaaaatgc ttgtcaaaat gtattgtcgg gtattttgat taatagttaa tgtggcttca
420
5 ttaattcaga gttactctcc aatatgttta tctgcccttt cttgtctgat aatggtgaaa
480
acttgtgtga tgcattgtat atttgattta ggggtgaact ggatgtcttt gttttcactt
540
ttagtgcaat tacgttgtcc ctgccacact ggtcattatc atcttcatct gcttccagca
600
10 gaagtcctat gtgtcctcca ccaatctgcc tgtgctagcc cttctacttt tgcgtatgg
660
gtaagtcacc tctgagtga gggagctcac agtgataag gcatttgggtg cccagtgtca
720
15 gaaggagggc agggactctc agtagacact tatctttttg tgtctcaaca ggtggtcaat
780
cacacctctc atgtaccacg cctcctttgt gttcaagatc cccagcacag cctatgtggg
840
gtcaccagc gtgaacctct tcattggcat taatggcagc gtggccacct ttgtgctgga
900
20 gctgttcacc gacaatgtga gtcattgcaga gagaacactc ctgctgggat gagcatctct
960
gggagccaga ggacagtgtt taattgtgat cttattccac ttgtcagtgg tattgacact
1020
25 gctgactgcc ttgtcctgtc ttcagagtct gtcttccctg agaaggcaaa gcacctttct
1080
ttcttctgt gccttacatt ttgctggta agcctttcag tttcttttga cagtttttt
1140
tacttcttct ttttttcaat gttgctctta ccaagagtag ctctctctgcc ttccacttta
1200
30 cacatgagag ctgggcgacg ccattcagtc ctaaggcttt taccatcacc tctcttgggtg
1260
tttttattgt catctctaa
1279
35
<210> 11
<211> 1124
<212> ADN
40 <213> Homo sapiens.

<400> 11
ttaaattgat tcactaggat atatgctact gaaaggggaa tctgcttaaa gtgctttctg 60
45 atatttatta ttactaaaac ttagaattta ttaaaaatac tgactgtgaa aaattacttg
120
ggtcgtttgc ctttttaaaa ggatttttgg catgtctcat taaaaaaaga aatactagat
180
atcttcagtg aagttacaaa tcgaatacac attggctctg aaattctgat tgatactggg
240
50 tcataaaaag ttttcccaaa tcagacttgg aaagtgatca ctctcttgtt actctttttt
300
ccttgtcatg ggtgatagcc atttgtgttt attggaagat cgggtgaattt taaggaacat
360
aggcccaaat ttgaggaagg gccatgggtt ttgatccctc cattctgacc ggatctctgc
420
55 attgtgtcta ctaggggaga atcgctttgt gtcaccatta tcttgggact tgggtgggacg
480
aaacctcttc gccatggccg tgggaaggggt ggtgttcttc ctcttactg ttctgatcca
540
60 gtacagattc ttcatcaggc ccaggtgagc tttttcttag aaccctgga gcacctggtt
600
gagggtcaca gaggaggcgc acagggaaac actcaccaat ggggggttga ttgaactgaa
660
ctcaaaaatat gtgataaaac tgattttcct gatgtgggca tcccgcagcc ccctccctgc
720
65 ccatcctgga gactgtggca agtaggtttt ataatactac gttagagact gaatctttgt
780

```

cctgaaaaat agtttgaaag gttcattttt cttgtttttt cccccaagac ctgtaaatgc
840
aaagctatct cctctgaatg atgaagatga agatgtgagg cgggaaagac agagaattct
900
5  tgatggtgga ggccagaatg acatcttaga aatcaaggag ttgacgaagg tgagagagta
960
caggttacaa tagctcatct tcagtttttt tcagctttat gtgctgtaac ccagcagttt
1020
gctgacttgc ttaataaaaag ggcatgtgtt cccaaaatgt acatctatac caaggttctg
1080
10 tcaattttat tttaaaaaca ccatggagac ttcttaaaga attc
1124

15 <210> 12
    <211> 729
    <212> ADN
    <213> Homo sapiens

20 <400> 12
    gaattcccat tctcgaatac attgggttta tatgcttaca tttatgtgtt agttattaaa 60
    acatactaatt attgtatatac tagtcaaaac tgaggtagag agaataaatg gttgattttg
    120
    agttttgagtt tcatagtcca aaaagctgat atattgcctg tgttcaagag ggtctatatc
25 180
    agccctctag atgccagcat ctccaaattt tacttttttg gaatctgtac agtatttgca
    240
    atatttttat tacaaatttc tactctgtgg aatttaattt ttaaaatacc tgcaatacat
    300
30 atatatgttg aatagatgaa aaattatgta gataataatg aatgatacgg ttctaaaaag
    360
    acagggttaa aagtaagttc actttttatt tgagcttcag aatcattcag aagccagtcg
    420
    ccacaaacgc agaccaaggc tcttggcaca tcaaatatgc ctatggctta gggttattga
35 480
    caagtcttat gttgcagtgt atgtgggtta tagtcctgcc ttccacagtt gcttgggaga
    540
    gctgtgagtc actgaggctt atgaatgttt acattttgtt tgttgcagat atatagaagg
    600
40 aagcgggaagc ctgctgttga caggatttgc gtgggcattc ctctgggtga ggtaaagaca
    660
    ctttgtctat attgcgtttg tccctattag ttcagactat ctctacccaa tcaagcaacg
    720
    atgctcggt
45 729

    <210> 13
    <211> 731
50 <212> ADN
    <213> Homo sapiens

    <400> 13
    acatgtgcca gtactgtgga gagcgcaagc tttggagtca aacacaaatg ggtttgcac 60
55 ctggccctac caattatgag ctctgagcca tgggcaagtg actaactccc tgggcctcag
    120
    tttctctgta acatctgtca gacttcatgg gtccagggtga ggattaaagg agatcatgta
    180
    tttacagcac atggcatggt gcttcacata aaataagtat ttagtaaatg ataactggtt
60 240
    ccttctctca gaaacttatt tctgggcctg ccaggggcgg ccttttttca tggcacaagt
    300
    tgggttccca gggttcagta ttcttttaaa tagttttctg gagatcctcc atttgggtat
    360
65 tttttctcgc ttccaggttt ggagatggtt atacaatagt tgtacgaata gcagggtcca
    420
    acccggaact gaagcctgtc caggatttct ttggacttgc atttcctgga agtgttctaa
    480

```

```

aagagaaaca ccggaacatg ctacaatacc agcttccatc ttcattatct tctctggcca
540
ggatattcag catcctctcc cagagcaaaa agcgactcca catagaagac tactctgttt
600
5 ctcagacaac acttgaccaa gtaagctttg agtgtcaaaa cagatttact tctcagggtg
660
tggattcctg ccccgacact cccgcccata ggtccaagag cagtttgtat cttgaattgg
720
tgcttgaatt c
10 731

<210> 14
<211> 3501
15 <212> ADN
    <213> Homo sapiens

<400> 14
gaattcttca acagggaaaa cagctagctt gaaaacttgc tgaaaaacac aacttgtgtt 60
20 tatggcattt agtaccttca aataattggc ttgacagata ttggataccc cattaaatct
120
gacagtctca aatttttcat ctcttcaatc actagtcaag aaaaatataa aaacaacaaa
180
25 tacttcata tggagcattt ttcagagttt tctaaccag tcttattttt ctagtcagta
240
aacatttgta aaaatactgt ttcactaata cttactgtta actgtcttga gagaaaagaa
300
aaatatgaga gaactattgt ttggggaagt tcaagtgatc tttcaatata attactaact
360
30 tcttccactt ttcccaaaat ttgaatatta acgctaaagg tgtaagactt cagatttcaa
420
attaatcttt ctatatcttt taaatttaca gaatattata taaccactg ctgaaaaaga
480
aaaaaatgat tgttttagaa gttaaagtca atattgattt taaatataag taatgaaggc
35 540
atatttccaa taactagtga tatggcatcg ttgcatttta cagtatcttc aaaaatacag
600
aatttataga ataatttctc ctcatttaat atttttcaaa atcaaagtta tggtttcctc
660
40 attttactaa aatcgatttc taattcttca ttatagtaaa tctatgagca actccttact
720
tcggttcttc tgatttcaag gccatatttt aaaaaatcaa aaggcactgt gaactatttt
780
gaagaaaaca caacatttta atacagattg aaaggacctc ttctgaagct agaacaatc
45 840
tatagttata catcttcatt aatactgtgt taccttttaa aatagtaatt ttttacattt
900
tcctgtgtaa acctaatgtt ggtagaaatt tttaaccaact ctatactcaa tcaagcaaaa
960
50 tttctgtata ttccctgtgg aatgtacctc tgtgagtttc agaaattctc aaaatacgtg
1020
ttcaaaaatt tctgcttttg catctttggg acacctcaga aaacttatta acaactgtga
1080
atatgagaaa tacagaagaa aataataagc cctctataca taaatgcccc gcacaattca
55 1140
ttgttaaaaa acaaccaaac ctacactac tgtatttcat tatctgtact gaaagcaaat
1200
gctttgtgac tattaatatg tgcacatcat tcattcactg tatagtaate attgactaaa
1260
60 gccatttctc tgtgttttct tcttgtgggt gtatatatca ggtaaaaat tttccaaaga
1320
gccatgtgtc atgtaatact gaaccacttt gatattgaga cattaatttg taccctgtgt
1380
tattatctac tagtaataat gtaatactgt agaaatatgt ctctaattct tttcaaaatt
65 1440
gttgcacccc ccttagaatg tttctatttc cataaggatt taggtatgct attatccctt
1500

```

cttataccct aagatgaagc tgtttttgtg ctctttgttc atcattggcc ctcatcccaa
 1560
 gcactttacg ctgtctgtaa tgggatctat ttttgactg gaatatctga gaattgcaaa
 1620
 5 actagacaaa agtttcacaa cagattttct aagttaaatc attttcatta aaaggaaaaa
 1680
 agaaaaaaa tttttgtatg tcaataacct ttatatgaag tattaatatg catatttcta
 1740
 10 tgtttgtaata taatgagtca caaaataaag ctgtgacagt tctgttggc tacagaaatt
 1800
 tacttttgtg catttgtggc accacctact gttgaagggt tataaagcca ttagaaaagt
 1860
 agaggggaag tgatttggat caaaaggaaa aacttttagaa aagattcaaa tgttccctta
 1920
 15 atcataaaag agaactgagg ggactacttg aaaataaaag gttgttttgt attttcatgt
 1980
 tgggttaagat actgagtaac tgggtattaag tggtagaggt ttttagataa atattctgct
 2040
 20 taatgattat gaagctgcac tgagatttct gaaaatgctc tgtagctgag cttattttaat
 2100
 aaatgttcac ttggtatagg ggaagctaca aaggcagcct tcagtgtcct tttgtttatt
 2160
 caacaaaaa tataaggaca caatgtagca gttatactgg gaaggtgctg ggggtggtg
 2220
 25 caatgggtgag caggaaggcg aagtagatat ggaaacagaa atgatactaa tatcgggtgat
 2280
 tccttccttt tttcctgtaa taagtgtgtg gcagacaaca tatgagcagt gctgataaat
 2340
 30 gtaaatgtat ttttcatagc tcattaagaa tcagtttcag aaagagatgt ctgcttattt
 2400
 tgctacttga agaaccctg tcaaacagtc cttttgagga agtacaagag gctgtctcta
 2460
 tttgtgacct caggaatggc tgtgacagtg tcgtgagcag tccttttcct gtggcacaga
 2520
 35 tctgaacttt gtgtgcagaa aaatcttggc ttcaagtga ccaagatgcc cctgagcat
 2580
 cagcatcaca acttcacct cctatcttga agttcatgtt atagtgaatt taatgaaatc
 2640
 atagaacact gtttcttcgt gaacaatgac gagggagagg aaaaaacttt attgaaaaat
 2700
 40 aaaaaggcag gtaatttaga tgaaaatatg ttacctatga ggttttgttt ttgctttttg
 2760
 tttttgtttt tgagaaacag aatctcgtc tgctgtccag gctggagtgc agcggcatga
 2820
 45 tcttggctca ctgcaacctc cgctccccgg gttcaagcga ttctcctcag ctccccaaat
 2880
 agctgggtact acaggcatgc gccaccacaa ccagctaatt tttgtatttt tagtagagat
 2940
 ggggtttcac tatacgttgg ccaggctggc ctcaaactcc tgacctagg tgatccttct
 3000
 50 gccttgggct cccaaagtgc tgggattaca ggcattgagc accttgcctg gccctacca
 3060
 tgagccttga ctaaaacatt cttctatctg tagaaaagcc caaagaact tttccagatt
 3120
 55 caaaaaactt ggcactttgt aatggtaatg tttacattaa gtaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 3180
 ccacttagc ttcagtttct aagtgtttac tgtgttgtca tgcacttcat ttaatttca
 3240
 60 acacctgccc tatgaggtaa aaagtaccat tttacatatg agtaaattac agctcagtgg
 3300
 ataagaaact cgtccaaagg tacaggttca gtcaagtggc agaggggtct tttgtttgaa
 3360
 gttagggtatc agttaaaatt gaccttgtaa aatcacatca gcatcaatat acattaattt
 3420
 65 aacaaatatt tattgaactt tactgtatgc cagatacttc tctaggtact aggggttaca
 3480
 atgtagaaga aaatagaatt c
 3501

<210> 15
<211> 151
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 15
10 atgctgttgg acagcagggg caatgaccac ttttgggaac agcagttgga tggcttagat 60
tggacagccc aagacatcgt ggcgtttttg gccaaagcacc cagaggatgt ccagtccagt
120
aatggttctg tgtacacctg gagagaagct t
151

15
<210> 16
<211> 206
<212> ADN
<213> Homo sapiens

20
<400> 16
tgtgtcaacc tgaacaagct agaaccata gcaacagaag tctggctcat caacaagtcc 60
atggagctgc tggatgagag gaagttctgg gctgggtattg tgttcactgg aattactcca
120
25 ggcagcattg agctgcccc a tcatgtcaag tacaagatcc gaatggacat tgacaatgtg
180
gagaggacaa ataaatcaa ggatgg
206

30
<210> 17
<211> 177
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35
<400> 17
gtactgggac cctgggtctc gagctgaccc ctttgaggac atgcggtacg tctggggggg 60
cttcgcctac ttgcaggatg tgggtggagca ggcaatcatc aggggtgctga cgggcaccga
120
40 gaagaaaact ggtgtctata tgcaacagat gccctatccc tgttacgttg atgacat
177

45
<210> 18
<211> 223
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 18
50 ctttctgcgg gtgatgagcc ggtcaatgcc cctcttcatg acgtggcct ggatttactc 60
agtggctgtg atcatcaagg gcatcgtgta tgagaaggag gcacggctga aagagaccat
120
gcggatcatg ggcttgga acagcatcct ctggtttagc tggttcatta gtagcctcat
180
55 tctctctctt gtgagcgctg gcctgctagt ggtcatcctg aag
223

60
<210> 19
<211> 222
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 19
65 ttaggaaacc tgctgcccta cagtgatccc agcgtggtgt ttgtcttcct gtccgtgttt 60
gtgtggtgta caatcctgca gtgcttcctg attagcacac tcttctccag agccaacctg
120

gcagcagcct gtgggggcat catctacttc acgctgtacc tgccctacgt cctgtgtgtg
180
gcatggcagg actacgtggg cttcacactc aagatcttcg ct
222

5

<210> 20
<211> 205
<212> ADN
10 <213> Homo sapiens

<400> 20
agcctgctgt ctccctgtggc ttttgggttt ggctgtgagt actttgccct ttttgaggag 60
cagggcattg gagtgcagtg ggacaacctg tttgagagtc ctgtggagga agatggcttc
15 120
aatctcacca cttcgggtctc catgatgctg tttgacacct tcctctatgg ggtgatgacc
180
tggtagattg aggctgtctt tccag
205

20

<210> 21
<211> 15
<212> ADN
25 <213> Homo sapiens

<400> 21
gccagtacgg aattc 15

30

<210> 22
<211> 105
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35

<400> 22
gaattcccag gccctggtat tttncttgca ccaagtccta ctggtttggc gaggaaagtg 60
atgagaagag ccacctgggt tccaaccaga agagaatatc agaaa
105

40

<210> 23
<211> 132
<212> ADN
45 <213> Homo sapiens

<400> 23
gtcaatccctg accgggttgt tccccccgac ctccgggcacc gcctacatcc tgggaaaaga 60
cattcgctct gagatgagca ccatccggca gaacctgggg gtctgtcccc agcataacgt
50 120
gctgtttgac at
132

55

<210> 24
<211> 143
<212> ADN
<213> Homo sapiens

60

<400> 24
gctgactgtc gaagaacaca tctggttcta tgcccgttg aaagggctct ctgagaagca 60
cgtgaaggcg gagatggagc agatggccct ggatgttggt ttgccatcaa gcaagctgaa
120
aagcaaaaaca agccagctgt cag
65 143

<210> 25

<211> 138
<212> ADN
<213> Homo sapiens

5 <400> 25
gtggaatgca gagaaagcta tctgtggcct tggcctttgt cgggggatct aaggttgta 60
ttctggatga acccacagct ggtgtggacc cttactcccg caggggaata tgggagctgc
120
tgctgaaata ccgacaag
10 138

<210> 26
<211> 221
15 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 26
gccgcaccat tattctctct acacaccaca tggatgaagc ggacgtcctg ggggacagga 60
20 ttgccatcat ctcccatggg aagctgtgct gtgtgggctc ctccctgttt ctgaagaacc
120
agctgggaac aggctactac ctgaccttgg tcaagaaaga tgtggaatcc tccctcagtt
180
cctgcagaaa cagtagtagc actgtgtcat acctgaaaaa g
25 221

<210> 27
<211> 73
30 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 27
gaggacagtg tttctcagag cagttctgat gctggcctgg gcagcgacca tgagagtgc 60
35 acgctgacca tcg 73

<210> 28
<211> 203
40 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 28
atgtctctgc tatctccaac ctcatcagga agcatgtgtc tgaagcccg ctggtggaag 60
45 acatagggca tgagctgacc tatgtgtgtc catatgaagc tgctaaggag ggagcctttg
120
tggaactctt tcatgagatt gatgaccggc tctcagacct gggcatttct agttatggca
180
tctcagagac gaccctggaa gaa
50 203

<210> 29
<211> 49
55 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 29
atattcctca aggtggccga agagagtggg gtggatgctg agacctcag 49
60

<210> 30
<211> 114
<212> ADN
65 <213> Homo sapiens

<400> 30
atggtacctt gccagcaaga cgaaacaggc gggccttcgg ggacaagcag agctgtcttc 60

gcccggttcac tgaagatgat gctgctgac caaatgattc tgacatagac ccag
114

5 <210> 31
<211> 149
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 31
aatccagaga gacagacttg ctgagtgga tggatggcaa agggctctac caggtgaaa 60
gctggaaact tacacagcaa cagtttggtg ccctttgtg gaagagactg ctaattgcca
120
gacggagtcg gaaaggattt ttgctcag
15 149

<210> 32
<211> 125
20 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 32
attgtctgac cagctgtgtt tgtctgcatt gccctgtgt tcagcctgat cgtgccaccc 60
25 ttggcaagt acccagcct ggaacttcag ccctggatgt acaacgaaca gtacacatt
120
gtcag
125

30
<210> 33
<211> 99
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 33
caatgatgct cctgaggaca cggaaccct ggaactctta aacgccctca ccaaagaccc 60
tggtctcggg acccgctgta tgggaagaaa cccaatccc 99

40
<210> 34
<211> 189
<212> ADN
<213> Homo sapiens

45 <400> 34
agacacgccc tgccaggcag gggaggaaga gtggacactg cccagttcc ccagaccatc 60
atggacctct tccagaatgg gaactggaca atgcagaacc cttcacctgc atgccagtgt
120
50 agcagcgaca aaatcaagaa gatgctgcct gtgtgtcccc caggggcagg ggggctgcct
180
cctccacaa
189

55
<210> 35
<211> 95
<212> ADN
<213> Homo sapiens

60 <400> 35
agaaaacaaa aactgcaga taccctcag gacctgacag gaagaaacat ttgggattat 60
ctggtgaaga cgtatgtgca gatcatagcc aaag 95

65
<210> 36
<211> 33
<212> ADN

<213> Homo sapiens
<400> 36
5 cttaaagaac aagatctggg tgaatgagtt tag 33

<210> 37
<211> 107
<212> ADN
10 <213> Homo sapiens

<400> 37
15 gtatggcggc ttttccttg gtgtcagtaa tactcaagca cttcctccga gtcaagaagt 60
taatgatgcc atcaaacaaa tgaagaaaca cctaaagctg gccaag 107

<210> 38
<211> 75
<212> ADN
20 <213> Homo sapiens

<400> 38
25 gacagttctg cagatcgatt tctcaacagc ttgggaagat ttatgacagg actggacacc 60
aaaaataatg tcaag 75

<210> 39
<211> 170
<212> ADN
30 <213> Homo sapiens

<400> 39
35 gtgtgggttca ataacaaggg ctggcatgca atcagctctt tcctgaatgt catcaacaat 60
gccattctcc gggccaacct gcaaaaggga gagaacccta gccattatgg aattactgct 120
ttcaatcatc cctgaatct caccaagcag cagctctcag aggtggctct 170

<210> 40
<211> 178
<212> ADN
40 <213> Homo sapiens

<400> 40
45 gatgaccaca tcagtggatg tccttgtgtc catctgtgtc atctttgcaa tgtccttcgt 60
cccagccagc tttgtcgtat tcctgatcca ggagcgggtc agcaaagcaa aacacctgca 120
gttcatcagt ggagtgaagc ctgtcatcta ctggctctct aattttgtct gggatatg 178

<210> 41
<211> 116
55 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 41
60 tgcaattacg ttgtccctgc cacactgggc attatcatct tcattctgctt ccagcagaag 60
tcctatgtgt cctccaccaa tctgcctgtg ctagcccttc tacttttgtc gtatgg 116

<210> 42
65 <211> 145
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 42
 gtgggtcaatc acacctctca tgtaccacgc ctctttgtg ttcaagatcc ccagcacagc 60
 ctatgtgggtg ctcaccacgc tgaacctctt cattggcatt aatggcagcg tggccacctt
 120
 5 tgtgctggag ctgttcaccg acaat
 145

<210> 43
 10 <211> 130
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 43
 15 gggagaatcg ctttgtgtca ccattatctt gggacttggg gggacgaaac ctcttcgcca 60
 tggcgtgga aggggtggg ttcttctca ttactgttct gatccagtae agattcttca
 120
 tcaggcccag
 130
 20

<210> 44
 <211> 121
 <212> ADN
 25 <213> Homo sapiens

<400> 44
 acctgtaaat gcaaagctat ctctctgaa tgatgaagat gaagatgtga ggcgggaaag 60
 acagagaatt ctgatgggtg gaggccagaa tgacatctta gaaatcaagg agttgacgaa
 120
 g
 121
 30

35 <210> 45
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

40 <400> 45
 atatatagaa ggaagcggaa gcctgctgtt gacaggattt gcgtgggcat tcctcctggt 60
 gag 63

45 <210> 46
 <211> 244
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

50 <400> 46
 gtttgagat ggttatacaa tagttgtacg aatagcaggg tccaacccgg acctgaagcc 60
 tgtccaggat ttctttggac ttgcatttcc tggaagtgtt ctaaaagaga aacaccggaa
 120
 catgctacaa taccagcttc catcttcatt atcttctctg gccaggatat tcagcatcct
 55 180
 ctcccagagc aaaaagcgac tccacataga agactactct gtttctcaga caacacttga
 240
 ccaa
 244
 60

<210> 47
 <211> 1237
 <212> ADN
 65 <213> Homo sapiens

<400> 47
 gaattcttca acagggaaaa cagctagctt gaaaacttgc tgaaaaacac aacttgtgtt 60

tatggcattt agtaccttca aataattggc ttgcagata ttggataccc cattaaatct
 120
 gacagtctca aatttttcat ctcttcaatc actagtcaag aaaaatataa aaacaacaaa
 180
 5 tacttccata tggagcattt ttcagagttt tctaaccag tcttattttt ctagttagta
 240
 aacatttgta aaaatactgt ttcactaata cttactgtta actgtcttga gagaaaagaa
 300
 aaatatgaga gaactattgt ttggggaagt tcaagtgate tttcaatata attactaact
 10 360
 tcttccactt tttccaaaat ttgaatatta acgctaaagg tgtaagactt cagatttcaa
 420
 attaatactt ctatattttt taaatttaca gaatattata taaccactg ctgaaaaaga
 480
 15 aaaaaatgat tgttttagaa gttaaagtca atattgattt taaatataag taatgaaggc
 540
 atatttccaa taactagtga tatggcatcg ttgcatttta cagtatcttc aaaaatacag
 600
 aatttataga ataatttctc ctcatltaat atttttcaa atcaaagtta tggtttctc
 20 660
 attttactaa aatcgtattc taattcttca ttatagtaaa tctatgagca actccttact
 720
 tcggttctc tgatttcaag gccatattt aaaaaatcaa aaggcactgt gaactattt
 780
 25 gaagaaaaca caacatttta atacagattg aaaggacctc ttctgaagct agaaacaatc
 840
 tatagttata catcttcatt aatactgtgt taccttttaa aatagtaatt ttttactt
 900
 tcctgtgtaa acctaatgt ggtagaaatt tttaccaact ctatactcaa tcaagcaaaa
 30 960
 tttctgtata ttccctgtgg aatgtacctc tgtgagttc agaaattctc aaaatacgtg
 1020
 ttcaaaaatt tctgcttttg catctttggg acacctcaga aaacttatta acaactgtga
 1080
 35 atatgagaaa tacagaagaa aataataagc cctctataca taaatgccca gcacaattca
 1140
 ttgttaaaaa acaaccaaac ctccactac tgtatttcat tatctgtact gaaagcaaat
 1200
 gctttgtgac tattaaatgt tgcacatcat tcattca
 40 1237

<210> 48
 <211> 3002
 45 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 48
 acatggcaat ggcattcatt aggaatctag ctgggaaaat ccagtgtgta tgcttgaaa 60
 50 tgagggatct ggggctggag agaaaggcat gggcatgcct tggagggact tgtgtgtcaa
 120
 gctgaggacc tttactttaa gctctagggg accaggcaag gggagatgta gatacgttac
 180
 tctgatggg tggatgaatt gaagaaggat gaggcaagaa tgaaggcaga gaccagggag
 55 240
 gaggctctcc aagtggccaa ggcataaagc aagaaatgag gcctgggtgac tgcttagtgg
 300
 cagagcagtg aaagagaggg aggcataaaa gtgagtctcg atttctagct ggggtgggtg
 360
 60 tagcgatgtc cagtaggcca gtggctactg aggtctgcag tggaggaggg tgggtgggct
 420
 ggagacagat gatgaggag tcatcagcct gtgggtggaa gaaaaggga cctcttccaa
 480
 ctgttttctt tgcttcttcc ctctctttct cttttttttt ttttttgac agagtcttgc
 540
 65 tctgtcacc aggtgaaat gcagtggcat gatcttggct caccacagcc tccgcctcct
 600

660 gggttcaagc aattctcctg tctcagcctc cagagtagct gggattacag gcacatatca
 720 ctgtgcccgg ctaatttttg tattttcagt ggagatggga tttcaccatg ttggtcgggc
 5 780 tggaatgaac tcttgacctc aagtgatcca cctgcctcag cctcccaaag tgttgggatt
 840 acaggcattg agccaccgcg cccggccttt cttccctctc ttaaagagtg tttatttaat
 900 tccacaaaca tgagcttgtc accccctgta gcctggcatc tcttacacga ggtgatggct
 10 960 gaggtctctg cttctgctgg ggtagctctg atctttctgc tttctctggc actgtctacc
 1020 catgttgctt caccacacag gtcccagggc acctctctcg ggcaagtctt ggaacctctt
 15 1080 gacactgatt tgctctcttt tctgagctgc ttttagccac ccatcctcgg gacctgtttt
 1140 ctctctgctt ccacctctgc gggcagctctt aggtctcctg cccctcacga gcacccaga
 1200 gagggccagt gctcagtgat ctgagtgagg gcactcttct agtcttgcta ttctttttgg
 20 1260 ccattgttgt cagaaacctt actgggcagg gccgaactta ccctaaaggc tgcgtctctt
 1320 cactctgctt ttgtttgttc caataaagt ggcttcagaa ttgctaacc tagcctctgt
 25 1380 gaacttgatg ggtacaattt tgtgtctgtt atgttaacaa aaatacatat ataccttctt
 1440 ggtgatggta taaattgcta ttctctattg gaaagcaatt tggaatgaaa atttaagaa
 1500 ccattttaaa atatgctatc ctgcgtacct ccattccacc cacccccagg gatgtagcct
 30 1560 actgaaataa ttttaagaa gtcaccatat gagagaaaat gttattgcta tattgttatt
 1620 gtgagaaatt ggaaatagac taaatgttca gcactatagg aataattaat gaaattacat
 35 1680 atactctata caatcattat gctgccattg aaataataaa tacaaggcgg caagggggga
 1740 aaagcttata atgttagtga aactaagact gatTTTTTTT taaagcagca gttttcagac
 40 1800 ccttgagac tccaattcgg tagaaccaga gcttcatctt ctctgtcgaa gctgtgacag
 1860 gagttgcaaa tgcctctcct ttttgctgag ttgagcgtg ctgtttttcc ggcagcacat
 1920 ctgtgcaggc ctctgcctcg gcccctctgg atctgctgat tgagcagcgg attgatctgt
 45 1980 ccttctcttt cgtgttgacc catgtgagga accaactggc aagggaacaa gaaatggaaa
 2040 taggcctcct ttgcatcatg acctgtacat cctgcaattg gaaaagattg tacttttagtt
 50 2100 ggtttaacca gcagcattat ttttctaaac taagcagtaa gaaggaaatta ggttttatgt
 2160 gggatcaaca gactgggtct caaaagagga aggtgataga acacagtggg gagggggagg
 2220 tgcactagaa acagagggcc tatgctttca ttctggcttt gctacttaat agctgtgtga
 55 2280 cccaatctta gagacttaac ctctctgaac ttccattttc tcatgtataa aatgggaaat
 2340 attaaaggat actcactggg ctggtggctt gtgcctgtaa tcccagcact tggggagggt
 60 2400 gaggtgggag gatcacttga gcccagggtg tcaagaccag cccaggcaac atggcaagac
 2460 tctgtctcta tgaaaaaatt aaaaattagc caggtgtggt ggtgtgcacc tgtagtctta
 2520 gctacttggg aggctgagat gggaggatca ctggggcttg ggaggtcaag gctgcggtga
 65 2580 gctgtgatcc catcactgca ctccagcccg ggcggcagag cgagacactg aatccaaacg
 2640 acaacaacaa caaaaggcaa aaaaataaaa gtgcctctt tatggagttg tgaagggtga

agcatatata ctattcaaca tagtaactat ataaaggaag tattgttggt gttactgtag
 2700
 ttaataccat taagtgagat gtttcgtata gtggaaagca catggactct gaattcagac
 2760
 5 tgggtctgact ttgagtctca gctccacatc tagtaatact atgaccaagc cctgggttaa
 2820
 atcatgtttt tttttcttca gccttagtct tctcacatat aaaatagga cactgtcatt
 2880
 tacctcagtt ttctgtgagg ataaaacaac gacagtgtat atgcaagtat tttgtaaatt
 10 2940
 ttgtagtgt cctcaagatt tagttgggtt ttactacttg tacttttctca ctggaatggc
 3000
 ag
 3002
 15
 <210> 49
 <211> 397
 <212> ADN
 20 <213> Homo sapiens
 <400> 49
 aattcgggtc caattaaatt tttgaaattt tatattaaaa attatattag tagggatggg 60
 25 taagaggtgt ttgggtctgg ttgggttggt agttgctatg actcagaatt gctaagaaaa
 120
 cagaaaagta agataagatc attgttttaa cctcttttcc tccacaaaat caataaataa
 180
 catatcccta aattactctt agaatttctc ttaaattgca gtgaaaaacc aaaatccttc
 240
 30 attcttgggt gaaggttgga aaactacgtt agagaggatt agagagagag gatgagcaat
 300
 cgtgtagtca gcccttgccct cctagtgtag gatttgtctc agccactgct tgttgtcctg
 360
 gctgccaacg ttctcatgaa ggctgttctt ctatcag
 35 397
 <210> 50
 <211> 520
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 50
 gtaagtggaa tcccatcaca ccagcctggt cttggggagg tccagagcac ctattatatt 60
 45 aggacaagag gtactttatt ttaactaaaa atttggtaga aatttcaaca acaacaaaaa
 120
 aactcaactt ggtgtcatga ttttggtgaa attggtacat gacttgcctg aagggttttc
 180
 ataggtcata aaataacagt atcttttgat tttagcatttc tactcaaggg aattaattcc
 50 240
 aggaattttg gtggcaggca cctgtaatcc cagctactcg ggaggctgag gcaggagaat
 300
 tgcttgaacc caggaggcag aggttgagc gagctaagat cgcatactg cactcccgcc
 360
 55 tgggcaataa gagtgaaact ccactcctaaa aaaaaaaaaa gatacaaaaa tagaaaaagg
 420
 ggcttggtta gggtagtagg gttttgggca attttttttt tttttttttt ttattgtatg
 480
 gttctaaagg aatgggtgat tacctgtggt ttggttttag
 60 520
 <210> 51
 <211> 1786
 65 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 <400> 51

gtaagttacc tgcaagccac tgtttttaac cagtttatac tgtgccagat gggggtgtat 60
 atatgtgtgt gcatgtgcat gcatgtgtga atgatctgga aataagatgc cagatgtaag
 120
 5 ttgtcaacag ttgcagccac atgacagaca tagatatatg tgcacacact agtaaaccctc
 180
 tttccttctc atccatgggt gccactttta tctttttatt tttatttttt tttttgagat
 240
 ggagtctcgc tctgacgccc aggctggagt gcagtggctc gatctcggct cactgcaacc
 300
 10 ttgcctccc gggttcaagc tattctcctg cctcagcctc cacagtagct gggactacag
 360
 gctcatgctg ccacgcccgg ctgacttttt gtatttttagt agagacgagg tttcaccatg
 420
 ttaccaggc tagacttcaa ctctgagct caggcaatcc accctccttg gcctcccaaa
 480
 15 gtgctgggat tacaggtgtg agccactgca ccagccac cactttaatt ttttacctc
 540
 tacccttttg gtcaaaattt gctcaatctg caagctttaa atgtgtcatg acaaacacat
 600
 20 gcaagcacat actcacacat agatgcagaa acagcgtcta aacttataaa agcacagttt
 660
 atgtaaatgt gtgcaattct tctccctagg tggtaaacca catttcaaaa caacccaat
 720
 25 aaaaactgaac aaagcttctt cctcttagac tttttagaaa atctttcagt gctgagtcac
 780
 taagctgcca agttctcatt gtgggaacta tgcctttgga tgtaatgatt tcttctaaga
 840
 caatgggchg aggtgtagtt attgcagaca tctgaaatat gtaatgtttc ttccagattc
 900
 30 tggaaattct cttattctct gtggttggtg gtggttggtg gatgtgtgtg tgtgtgtgtg
 960
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tagggatcag gatgcgggag gagctgggtt ctgcttgtat
 1020
 tggttctctg ttttgcattg aatagtgtgt ttccttgtat ggctatctat agcttttcaa
 1080
 35 ggtcaccaga aattatcctg tttttcacct tctaaacaat tagctggaat ttttcaaagg
 1140
 aagactttta caaagacccc taagctaagg tttactctag aaaggatgtc ttaagacagg
 1200
 40 gcacaggagt tcagaggcat taagagctgg tgcctgttgt catgtagtga gtatgtgcct
 1260
 acatggtaaa gctttgacgt gaacctcaag ttcagggtcc aaaatctgtg tgccttttta
 1320
 ctttgacat ctgcattttc tattctagct tggaaatctga aacattgaca agagctgcct
 1380
 45 gaaatgtatg tctgtggtgt gattagagtt acgataagca agtcaatagt gagatgacct
 1440
 tggagatggt gaacttttgt gagagaatga gttgtttttt tgttttggtt tttagtactt
 1500
 50 taacataatc taccttttagt ttaagtatcg ctcacagtta cctagttact gaagcaagcc
 1560
 cccaaagaaa tttggtttgg caacactttg ttagcctcgt ttttctctct acattgcatt
 1620
 gctcgtgaag cattggatca tacgtacatt tcagagtcta gagggcctgt ccttctgtgg
 1680
 55 cccagatgtg gtgtccctc tagcatgcag gctcagaggc cttggcccat caccctggct
 1740
 caggtgtgtc tttctttctc cccttgcct tccctggggc ctccag
 1786
 60
 <210> 52
 <211> 1745
 <212> ADN
 65 <213> Homo sapiens
 <400> 52
 gtaaggcagc ctcaactcgt cttccctgcc aggaaactcc gaaatagctc aacacgggct 60

aagggaggag aagaagaaaa aaaatccaag cctctggtag agaaggggtc atacctgtca
 120
 tttcctgcaa tttcatccat ttatagttgg ggaaagttag gccagagag gggcagtga
 180
 5 ttgcccagg tcaaccagc cgggttagc ctaagtagga tgagagtga gggttcatgc
 240
 tttccagata accacatgct caactgtgcc atgctgtctc attggtagt gttcatggca
 300
 10 gcatctgaaa gctatttatt ttcttagata tattgggtgg cgattcttcc taagtttcta
 360
 agaacaataa tcagaaggat atatattgtt gcagggttaga ctgtctggaa gcagaggctg
 420
 aaatagagtt tgatgtatgg gtatttatga gggctcaata cctatgaaga gatattggaag
 480
 15 atgcaggatt gggcagagg aggagttaga ctgtgatata gggccaaccc cgtggggcac
 540
 tctanagaat atgcagcttg ttggagttgt tnttcatcga gctgaaacat ccagcccttt
 600
 gtgctcccc aaggcctccc tctgacacc acctacctca gccctctcaa tcaatcactg
 660
 20 gatgtgggt gccctgggaa ggtcgtgccc cagggcctac atggctctct gctgctgtga
 720
 caaaccaga gttgctgatg cctgaggccg tctactgaca gctgggcaac aaggctcccc
 780
 25 tgaatgggga ctctgggcag tgcagttttg tgtctgaacc atacattaat atatttatat
 840
 ccgaattttc tttctctgca agcatttcat ataaagacac atcaggtaaa aataaatgtt
 900
 30 tttgaagcaa aaggagtaca aagagataag aactaactaa ttaatacta gttaccatct
 960
 gttacaaata gttcctactg attgccaagg actgttttaa cacatcacat gggcttcttc
 1020
 ttctatcctc actaaccctt ttaacagaca aggaaatgag gctcaggaag gtcaaggact
 1080
 35 ttattgaggt tccacagtag gatacagttc ttgctaaaag caaccctcc ctcatgctct
 1140
 gttatctaac tgcaagggga aggtcagtgg cagaggtagt ggtcccatgg ttggtgcata
 1200
 40 agagctgctc tgagacaact gcatgctggg ggtcctgca gacatgtacc catcagccgg
 1260
 agataggctc aaaatatcca caagagtttg gatgattgtg ggaatgcaga atccatggtg
 1320
 atcaagagg aaagtcaagt tgctggcca ttttcttgg ctttttagaca gaaaagttac
 1380
 45 gtgggatatt atctcccaca gctcttctgt ggtgccacca gtcatagtcc ttatataagg
 1440
 agaaaccagt tgaaattacc tattgaagaa acaaagagca aactcgcca ctgaaatgcg
 1500
 tagaaagccc tggactctgt tgtattcata actctgccat ttttttctg cgtagttttg
 1560
 50 ggtaagtcac ttatcttctt taggatggtg atgatcagtt gcctcatcag aaagatgaac
 1620
 agcattacgc ctctgcattg tctctaacat gagtaggaat aaaccctgtc ttttttctgt
 1680
 55 agatcataca agtgagtgtc tgggattgtt gaggcagcac atttgatgtg tctcttctt
 1740
 cccag
 1745
 60
 <210> 53
 <211> 1060
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 65
 <400> 53
 gtgagtacct ctggccttct ttcagtggct gtaggcattt gaccttctt tggagtcct 60

gaataaaagc agcaagttga gaacagaaga tgattgtctt ttccaatggg acatgaacct
 120
 tagctctaga ttctaagctc ttttaagggtta agggcaagca ttgtgtttta ttaaattggt
 180
 5 tacctttagt cttctcagtg aatcctgggt gaattgaatt gaatggaatt tttccgagag
 240
 ccagactgca tcttgaactg ggctggggat aaatggcatt gaggaatggc ttcaggcaac
 300
 10 agatgccatc tctgcccttt atctcccagc tctgttggtt atgttaagct catgacaaag
 360
 ccaaggccac aaatagaact gaaaactctt gatgtcagag atgacctctc ttgtcttctt
 420
 tgtgtccagt atgggtgtttt gcttgagtaa tgttttctga actaagcaca actgaggagc
 480
 15 aggtgcctca tcccacaaat tcttgacttg gacacttctt tccctcgtac agagcagggg
 540
 gatattcttg agagtgtgtg agccccatac agtgcaagtt gtcagatgtc cccagggtcac
 600
 20 ttatcaggaa agctaagagt gactcatagg atgctcctgt tgcctcagtc tgggcttcat
 660
 aggcacagc agccccaaac aggcacctct gatcctgagc catccttggc tgagcagggg
 720
 gcctcagaag actgtgggta tgcgcagtgt tgtgggggaa caggattgct gagccttggg
 780
 25 gcatcttttg aaacataaag ttttaaaagt tttatgcttc actgtatatg catttctgaa
 840
 atgtttgtat ataatgagtg gttacaaatg gaatcatttt atatgttact tggtagccca
 900
 30 ccactccctt aaagggactc tataggtaaa tactacttct gcaccttatg attgatccat
 960
 tttgcaaatt caaatttctc cagggtataat ttacactaga agagatagaa aaatgagact
 1020
 gaccaggaaa tggataggtg actttgcctg tttctcacag
 1060
 35
 <210> 54
 <211> 1104
 <212> ADN
 40 <213> Homo sapiens
 <400> 54
 gtacactgct ttgggcatct gtttggaaaa tatgacttct agctgatgtc ctttctttgt 60
 gctagaatct ctgcagtgca tgggcttccc tgggaagtgg tttgggctat agatctatag
 120
 45 taaacagata gtccaaggac aggcagctga tgcgtgaaagt acaattgtca ctacttgtac
 180
 agcacttggt tcttggaaac tgtgtgccag gcagcatgca aaatgtttta tacacattgc
 240
 50 ttcatTTaat tctcacaagg ctactctgaa gtagtTacta taataaccag caattttcaa
 300
 atgagagaac tgtgactcaa agacgttaag taaccagctt tggtcacaca actgttaaat
 360
 gttggTactg ggaggtgaat ccacttcggt tactctgggt caataagccc aggcgaatcc
 420
 55 tccaatgct cacccaattc tgtatttctg tgtcctcaga gggggtacaa ctaggagagg
 480
 ttctgtttcc tgagtacagg ttgttaataa ttaaataatac tagctctaag gcctgcctgt
 540
 60 gatttaatta gcattcaata aaaattcatg ttgaattttt ctttagtact tctttcttaa
 600
 tataatacat cttcttgacc aagtccaaga ggaacctgcg ttggacagtt ttcatatgag
 660
 atcaaattct gagagagcaa gatttaaccc tttttggTtc accttctgat cctcccttaa
 720
 65 ggaggtatag atgaaatatt tattactcct gcctgaactt ctttcattga atatgcaatt
 780

ttgcagcatg cagattctgg atttaaattc tgagtcttaa cttactggct gagggacctt
 840
 ggataggctc cttatccctc agtttctca tctctaaaat ggggatggca cctgcccgct
 900
 5 gggttgttgg aaggacttac agagggtcag aatgtacgtt gtacatagca ggtttcagca
 960
 aatgttagct cctcttttcc ccacatccat tcaaactctgt tccttctcca aaggatgtgt
 1020
 10 caaggaggaa atggacctgg ctgggaaacc ctcagaatac tgggatgatg ctgagcttgg
 1080
 ctcatactg tgctttgctt tcag
 1104

15 <210> 55
 <211> 1180
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 55
 gtaagtgtg ttgacctcct gctctttctt taacctagtg ctgctgcctc tgctaactgt 60
 tgggggcaag cgatgtctcc tgcctttcta aaagactgtg aaaccactcc aggggcagag
 120
 aaatcacatg cagtgtccct ttccaaatcc tcccatgcc a tttatgtcca atgctgttga
 180
 25 cctattggga gttcacggtc tcgatccctg agggacattt tctttgttgt cttggcttct
 240
 agaagagtat cttttacttg cccctcccca aacacacatt tcatggctc ctaacaagct
 300
 30 agaagaaaga ggtaaagaca agcgtgattg tggaaacata gcctcgctgc ctgcctgtga
 360
 catggtgacc tgtgtatcag cctgtgtggg ctgagaccaa gtggctacca cagagctcag
 420
 cctatgcttc ataattgaat cattaccag atccctaate ctctcttggc tcttaactgc
 480
 35 agacagagat gtccacagct catcaaaggc tctgccttct gggttctttg tgcttagagt
 540
 ggcttctctaa atatttaata ggtccctttt ctgccagtct cttctgtgcc catccctga
 600
 40 ttgcccttgg taaaagtatg atgcccctta gtgtagcag cttgcctgct gttcctaate
 660
 atcttctcct acctcctctt tacacctagc tctgtttca gtcacctaga aatgtcaca
 720
 gtcgctggaa tatgtcatgt tcttccacac ctccatgcct ttgtaggtac tgtttgtctt
 780
 45 cacaggagaa ctttctctct aacttgctta tcttctcaac tcctcctttc tctccaagat
 840
 ctagtccgg atccctccc ctgagcatcc ctcttgggt ctcaggtagt cagtcactct
 900
 50 ctgccctgaa cttccatggc acgtgaaaga aaatctttt attttaaaac aattacagac
 960
 tcacaagaag taatacaaat tacatgaggg ggttccctta aacctttcat ccagtttccc
 1020
 caatggtagc agcatgtgta actgtagaat agtatcaaaa ccatgaaatt gacataggta
 1080
 55 caattcacia accttcttca gatttacta gctttatgtg cgctcattg tgtgtgtgtg
 1140
 tgcgtattta gttctatgca attttatcat gtgtgaattc
 1180

60 <210> 56
 <211> 903
 <212> ADN
 65 <213> Homo sapiens

<400> 56
 gatccctggg ccaagggaag gagcacatga ggagttgccg aatgtgaaca tgttatctaa 60

tcatgagtgt ctttccacgt gctagtttgc tagatgttat ttcttcagcc taaaacaagc
 120
 tggggcctca gatgaccttt cccatgtagt tcacagaatt ctgcagtggc cttggaacct
 180
 5 gcagccacga aaagatagat tacatatgtt ggagggagtt ggtaattccc aggaactctg
 240
 tctctaagca gatgtgagaa gcacctgtga gacgcaatca agctgggcag ctggcttgat
 300
 10 tgccttccct gcgacctcaa ggaccttaca gtgggtagta tcaggagggg tcagggggctg
 360
 taaagcacca gcgttagcct cagtggcttc cagcacgatt cctcaacctat tctaaccatt
 420
 ccaaagggtat tatctttggg ggggtgacatt cttttcctgt tttcttttta atcttttttt
 480
 15 aaaacataga attaatatat tatgagcttt tcagaagatt tttaaaaggc agtcagaaat
 540
 cctactacct aacacaaaaa ttgtttttat ctttgaataa tatgttcttg tttgtccatt
 600
 20 ttccatgcat gcgatgttag gcatacaaaa tacatttttt aaagaatact ttcattgcaa
 660
 attggaaact tcgtttaaaa aatgctcata ctaaaattgg catttctaac ccataggccc
 720
 actttagtatt atttaccgaa gcaaaaggac agctttgctt tgtgtgggtc tggtaggggt
 780
 25 cattagaaag gaatgggggc ggtggggagg ttggtgttct gttctctctg cagactgaat
 840
 ggagcatcta gagttaaggg taggtcaacc ctgacttctg tacttctaaa tttttgtcct
 900
 cag
 30 903

<210> 57
 <211> 486
 35 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 57
 40 gtgagtacca gcagcacgtt aagaataggc cttttctgga tgtgtgtgtg tcatgccatc 60
 atggaggag tgggacttaa gca:tttact ttgctgngtt tttgtttttt ctttttttct
 120
 tttttatttt tttgagatgg agtctcgctc tgtagccagg ctggactgta gtggcgcgat
 180
 45 ctcggtcac tgcaaccttg gcctcccagg ttcaagcgat tctctgcct cagcctcccg
 240
 agtagctggg actctaggca cacaccacca tgcccagcta atttttgtgt ttttagtaga
 300
 gacgggggtt caccatgttg gccaggatgg tctcaatgtc ttgacctcgt gatccgccca
 360
 50 cctcgggtct ccaaagtgtt gggaacacag gcatgagcca ctgtgtcttg ccacatttta
 420
 ctttctttga atatggcagg ctacacctcg tgaacacctt gagacctagt tgttctttga
 480
 ttttag
 55 486

<210> 58
 <211> 283
 60 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 58
 65 gaaattgaaa gttgtaactg cctgggtgat ggtggccagg cctgctggaa acaggttggg 60
 agcgatctgt cacctttcac ttgatattcc tgagcagctc atgtggttgc tcaactgtgt
 120
 tctaccttga atcttgaaga ttatttttca gaaattgata aagttatttt aaaaagcacg
 180

gggagagaaa aatatgccca ttctcatctg ttctgggcca ggggacactg tattctggg
240
tatccagtag ggcccagagc ttgacctgcc tccctgtccc cag
283

5

<210> 59
<211> 203
<212> ADN
10 <213> Homo sapiens

<400> 59
gtgcggccca gagctacatt ccctatccct ctcccctcct cctccggcta cacacatgcg 60
gaggaaaatc agcactgccc cagggtccca ggctgggtgc ggttggtaac agaaacttgt
15 120
ccctggctgt gccctaggt cctctgcctt cactcactgt ctggggctgg tectggagtt
180
tgtcttgctc tgtttttttg tag
203

20

<210> 60
<211> 702
<212> ADN
25 <213> Homo sapiens

<400> 60
gtgcctgatg tgtatttatt ctgagtaaat ggactgagag agagcggggg gcttttgaga 60
agtgtggctg tatctcatgg ctaggcttct gtgaagccat gggatactct tctgttatca
30 120
cagaagagat aaagggcatt gagactgaga ttcttgagag gagatgctgt gtctttatc
180
atctttttgt cccaacatg gtgcactaaa tttatggtta gttgaaaggg tggatgctta
240
35 aatgaatgga agcggagagg ggcaggaaga cgattgggct ctctggttag agatctgatg
300
tggtacagta tgaggagcac aggcaggctt ggagccaact ctggctggcc ctgagacatt
360
gggaaagtca caacttgcct caccctcttt gccgataata atagtgtgct ttacctcata
40 420
gaggattaaa ttaaatgaga atgcacacaa accacctagc acaatgcctg gcatatagca
480
agttcccaaa taaatgcta ctgttcttac ctctgtgagg atgtggtacc tatatataca
540
45 aagctttgcc attctagggg tcatagccat acagggtgaa aggtggcttc caggctctct
600
ccagtgtcta cccctgctaa tatctctcta gtccctgtca ctgtgacaaa tcagaactga
660
gaggcctcac ctgtcccaca tccctgtgtt tgtgcctggc ag
50 702

<210> 61
<211> 1258
55 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 61
gtgagctgca gtcttggtgc tgggctgggtg ttgggtctgg gcagccagga ctgctggct 60
gtgaatgatt tctccatctc caccctttt gccatgttga aaccaccatc tccctgctct
120
gttgcccctt tgaatcata tcatacttaa ggcattggaaa gctaaggggc cctctgctcc
180
cattgtgcta gttctgttga atcccgtttt ccttttcta tgaggcacag agagtgtatg
240
65 agaaggtcct tagaggacat tattatgtca aagaaaagag acttgtcaag aggtaagagc
300

cttggctaca aatgacctgg tgttcctgct cttactttt caatctcatt gaccttaact
 360
 tttaaactat aaaacagcca atatttatta ggcactgatt tcatgccaga gacactctgg
 420
 5 gcatgaaaga aagtaatgat aatagttaat tttatatagc gttgttacca tttaacaact
 480
 tttttttttt tttaacctct atcatctcaa ttaaagtga gagagaccct gggaagaagg
 540
 taactatatt tattatccca gatgagggaa gtgaggcttg tagggaattg gttagctgatt
 600
 10 caaggtcacc cagcaggtaa ataacagtgg tgggaccaga cccaattacc aggtatgttt
 660
 tcctctgtac cgcagtacat gcctgagatt tatttgtgtg ttgaagccag tggtaacctaa
 720
 15 tgtatttaca tcccaacctg aaactcctat ccacttattt accttttaat gagcctctta
 780
 actcaagtgc agtctgagga ccagcagcat caggatcact tgggaacttg ttagaaattc
 840
 agcaacctgg gccagctca gacctaccga atcagaatct gtgcatttta acaaggttct
 900
 20 tgagtgttg aacacacatt aaagcatgag aagcattgaa ctagacatgt agccaggtaa
 960
 aggccttgcc tgagatggtt ggcaaaggcc tcattgcage attcattggc aggccacagt
 1020
 25 tcttttgga gctctgctc ctgaccttc accctcagga agcgaggctg ttcacacggc
 1080
 acacacatgc cagacagggt cctctgaagc cacggctgcc agtgcatgtg tcccaggga
 1140
 agctttttcc ttagttctc acacaacaga gcttcttgga agccctcccc ggcaaagggt
 1200
 30 ctggtggctc tgccttgctc cgtccctgac ccgttctcac ctcttcttt gccatcag
 1258

 35 <210> 62
 <211> 986
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 40 <400> 62
 gtaaggactc tggggtttct tttcaggtg gtgcctgagc ttccccagc tgggcagagt 60
 ggaggcagag gaggagaggt gcagaggctg gtggcgctga ctcaaggttt gctgctgggc
 120
 tggggctggg tggctgcggg tgtgggagca gcttgggtggc gggttggcct aatgcttgct
 180
 45 ggggtgcctg gggctcgggt tgggagctag cagggcagtg tcccagagag ctgagatgat
 240
 tggggtttgg ggaatccctt aggggagtg acactgaata ccagggatga ggagctgagg
 300
 50 gccaaagccag gagggtggga tttgagctta gtacataaga agagtgagag cccaggagat
 360
 gaggaacagc cttccagatt tttcttgggt agcgtgtgta ggaggccagt gtcaccagta
 420
 gcatatgtgg aacagaagtc ttgaccttg ctatctctgc ctagtccctaa tggctggctt
 480
 55 ttcccaggaa ggcttctgct tncatggacn gntagattaa ccctttattt aggtaaatga
 540
 gggaacctac ttataagca taggaaaggg tgaagaatct tttaagattc ctttactcaa
 600
 60 gttttctttt gaagaatccc agagcttagg caatagacac cagactttga gcctcagtta
 660
 tccattcacc catccacca cccaaccacc catccttcca tcctcccatc ctcccattca
 720
 cccatccacc catccagctg tccaccatt ctacactgag tacctataat gtgcctggct
 780
 65 ttggtgatac aaaggtgaat aagacatagt cctttccttt gcccccaacc ctccagaccag
 840

agatgaacat gtggaatgac ctaaacacct ggaacagggtg tgggtgtatga gcggcaggcc
 900
 tctgatgaga ggggtgggga tggccagccc tcaactccgaa gccctctga gttgattgag
 960
 5 ccatctttgc attctggtcc ctgcag
 986

<210> 63
 10 <211> 1667
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 63
 15 gtaagttaag tggctgactg tcggaatata tagcaaggcc aaatgtccta aggccagacc 60
 agtagcctgc attgggagca ggattatcat ggagttagtc attgagtttt taggtcatcg
 120
 acatctgatt aatgttggcc ccagtgcagc atttaagatg gtagtgggag atagcaggaa
 180
 20 agaagtgttt tcctctgtac cacagtacat gcctgagatt tgtgtgttga aaccagtggg
 240
 acctaacaca ttacatccc aaccttaaac tcctatgcac ttatttacct ttaaatgagc
 300
 ctctttactt aagtacagtg tgaggaacag cggcatcagg atcacttggg aacttgttag
 360
 25 aaatacagca acttgggccc agctcagacc tactgaatca gaatcaggag caattctctg
 420
 gtgtgactgt gtcacagcca ggtatcaact ggattctcat acataggaaa tgacaaacgt
 480
 30 ttatggatgg atagtctact tgtgccaggt gctgagattt gttttttgtt ttttgatttt
 540
 tttttaatca ctgtgacctc atttaattct caaaaaaaga tgaaaaaatg aacactcagg
 600
 aatgctgaca tgagattcag aatcaggggt ttggggcttc aaagtccatc ctctctttat
 660
 35 ccatgtaatg cctccctta gagatacaac atcacagacc ttgaaggctg aaggggatat
 720
 aaaagctgtc tggccaagtg gtctccaagc ttgacagtgc agcagaatca cctggggata
 780
 40 ttattaaaaa taaacatact aaggtttggc ttcagggcct gtgaatcaga atttctggag
 840
 gtgaggcctt gaagtctgta tttctattgc atactttgga cacagtgggc tatagactag
 900
 agttttgaaa tgattgcgct cattcagatt ctcttctgat gtttgaattg ctgccatcat
 960
 45 atttctagtg ctctatttcc tcctgctcat tctgtcttgg ataacttatc atagtactag
 1020
 cctactcaaa gatthagagc cacagtctg aaagaagcca cttgactcat tccctgtagg
 1080
 50 ttcagaataa atttcttctg cgcagtgtct gtcatagcct tttttaaat tttttttatt
 1140
 tttgatgaga ctggagtttt gctcttattg cccaagctgg agtgacagtgg tgcgattttg
 1200
 gctcactgca acctccacct cccaggttca agcgattctc ctgcctcagc ctcccaagta
 1260
 55 gctgagatta caagcatgtg ctaccacgcc cagctaattt tgtattttta gtagagatgg
 1320
 gttttatcca tgttggctag gctggctctg agctccagac ctgaggatgat ctgcccgcct
 1380
 60 cggcctccca aagtgtggg attataggcc tgagccacag cgctcagcca taactttaat
 1440
 ttgaaaaatga ttgtctagct tgatagctct caccactgag gaaatgttct ctggcaaaaa
 1500
 cggcttctct cccaggaac tctgagaaag tgttattaag aaatgtggct tctactttct
 1560
 65 ctgtcttacg gggctaacat gccactcagt aatataataa tcgtggcagt ggtgactact
 1620

ctcgtaatgt tgggtgcttat aatgtttctca tctctctcat tttccag
1667

5 <210> 64
<211> 195
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 64
gtaactgcct tgagggagaa tggcacactt aagatagtagc cttctgctgg ctttctcagt 60
gcacgagtat tgttcctttc cctttgaatt gtctattgac attctcattt gtagagtgtg
120
ggtttgttgc agatggggaa ggtttgtttt gttgtaaata aaataaagta tgggattctt
15 180
tccttgtgcc ttccag
195

20 <210> 65
<211> 284
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25 <400> 65
gtctgttagg gcaagatcaa acagtgtcct actgtttgaa tgtgaaattc tctctcatgc 60
tctccctgt tttctttgga tggcctttan ccaaggtagt agatccctac agagtccaaa
120
gagaagttag gaaatgggta aagccacttg ttttttgtag catcngcat gtnatcaaac
30 180
ctganagagc ctatccatat cacttttctt taanagacat taaanatggn tccttaattt
240
cttttganc cttgtattt attattcttt tctgctggg gtcc
284
35

<210> 66
<211> 560
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 66
tctagaaaat ttttaggaac agaaaacttt ccagttctct caccctgct caaagagtgt 60
atggctctta cattatatat aactgcctga ctctacacag tatcagtact tagatcattt
45 120
gaaatgtgtc cacgttttac caaaatataa tagggtaga agctgagatg ctaattgcca
180
ttgtgtattc tcaaatatgt caagctacgt acatggcctg tttcatagag tagtctataa
240
50 gaaattgatg acttgattca tccgaatggc tggtgtgaac acctgggtac gcatgaacac
300
ctcttttcag ttgtctcaag acacctttct tttctgtact tatcagacaa ggactgaaag
360
gcagagactg ctactgttag acattttgag tcaagctttt ccttggacat agctttgtca
55 420
tgaaagccct ttacttctga gaaacttcta gcttcagaca catgccttca agatagttgt
480
tgaagacacc agaagaagga gcatggcaat gccgaaaaca cctaagataa taggtgacct
540
60 tcagtgttgg cttcttgcag
560

<210> 67
65 <211> 1649
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 67
 gtgagacgtg ctgttttcgc cagagactct ggcttcatgg gtgggctgca ggctctgtga 60
 ccagtgaagg caggatagca tcctgggtcaa gatatggatg ccggagccag atttatctgt
 120
 5 atttcaatcc cagttctatt ccttgccagt tgtgtatccg ctggcaagtt acttctctat
 180
 gcctcaatct cctcatctgt aaaatgggga taataatatt acctgcaata cagggttggt
 240
 acgaaaaata aatgaatag gtgcttagaa tggggcctga cattagtaag tgcttagttt
 10 300
 tgtgtgtgta tatgttattt ttattttga ggagaacata aaaaggacaa agtgtagaaa
 360
 aactgggttg gtgtattcag ctgtcataac atgagagttg ttatgccag atgcacttga
 420
 15 catgtgaatt tattagaac atgatttttc tctgagttga tgtttaactc aaactgatag
 480
 aaaagatagg tcagaatata gttggccaac agagaagact tgtagacta ttgtctgcat
 540
 gtcagtgttt gcatgctaac ttgcttagtt agaaaggtta aattttttca ctctataaaa
 20 600
 tcaagaaata tagagaaaag gtctgcagag agtctttcat ttgatgatgt ggatattgtt
 660
 aagagcggga gtttggagca tacagagctc aagttgaatc ctgactttgc tacttattgg
 720
 25 ctatatgacc ttgggcaagc tgcttagtct ctctgaccc cagttacctt tgtttgttga
 780
 tgatgaccat tgataacaca accataaata atgacaacat agagatagtt ctctattatag
 840
 tagttgttat acagaattat tcaactcaatg ttaattttct gcattgaaat ccagaaacat
 30 900
 tagaattggg ggcattattt gaatctttaa ggttataagg aatacatttc tcagcaataa
 960
 atggaaggag ttttgggtta acttataaag tatacccaag tcattttttt ttcagagaag
 1020
 35 atatggtaga aagtcttagg aggttgaaga aggaattgga tatttattct ttctgagact
 1080
 atcatgggag ataatgacta tgggtgtcca tgattggagc cgttgctgta gagttggttc
 1140
 tattatagtg taggatttga atgggcatg tgttctcaga cctcagatta aatgagaaa
 40 1200
 actgaggcca gtggggagcg tgacttcaca tgggtacact tgtgctagag acagaaccag
 1260
 gattcaggac ttctggctcc tggctcctggg ttcatggccc aatgtagtct ttctcagtct
 1320
 45 tcaggaggag gaagggcagg acccagtgtt ctgagtcacc ctgaatgtga gcactattta
 1380
 ctctgtgaac ttcttggtt agtgccctctg ccagggtggc ataacctctg gccttggtt
 1440
 gccagagaaa aggttttagtt ttcaggctcc attgcttccc agctgccaag aatgccttgg
 50 1500
 tgcagcacag tcataggccc tgcattcttc attgccgtgc tggttggctg gggaggtggg
 1560
 ctggactcgt agggatttgc cccttggcct tgtttctaac acttgccgtt tcctgctgtc
 1620
 55 ccctgcccc ctccactgcc tgggtaaag
 1649

<210> 68
 60 <211> 1230
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 68
 65 gtatgtttgt cttctacatc ccaggagggg gtaagattcg agcagaccaa agatgtttac 60
 gagggccaag ggaatggact tcagaattac acggtggaat gaattttact gctgcggctc
 120


```

    aggtccctgt ataagctaata actgcatgca tagaacagca gcgaactaac cctgaataat
    180
    aggccagtct tctgttgagc ctttcagcct ctctcctctt catcctaactg ttgtcaggaa
    240
5   cagccacatg tgttttaggt gaaataatcc acccttgcaa aaatccatga ttaagttata
    300
    aaatatttgg atttgtggag ctgtgtttta attctgtaac tgagtcacag ggcacactgt
    360
    caaagcatag aacctccaga gacttgtttt ctgcaaagta taattcatgt aattattatc
10  420
    tattctgtta tatttgggat gttaggtagt gtttgttctt tagataaaaa tatccccac
    480
    tctgtaacaa tacattaaat caaagaaaag gacaaaggat ttttctgggt cttgttagca
    540
15  ggagctttct tcagtcctga aagatttgta gacctgtaga tgggggaact gtgtcagtga
    600
    tacaaaaggg aagcatttaa aaaaaaaaaa tatatatata tatatatata tatgtaatgt
    660
    gaattggcct ctttttctct aagcccat tttctctta catagttcag gtttacttta
20  720
    ttttttctt tccggctgct gacctgtat tgcccgtagt tgtggaacat agcatgtgtt
    780
    tgtgacctgt gcctgttatt tttgtgcttt ctagtgtgc atgcaaagag tacaaagt
    840
25  tcttgccctt tcttgaaaa tctgtctgt ctgtgcaaa gggataattg tgaaagcact
    900
    ttgaaatac ttaatgagtt gattttcttc aaattaaaaa aaatatata atgtatctgt
    960
    gtatgtacat gtgtgtacac atacacacct ttatacatag agccattta aaacaagctc
30  1020
    cactttggag tgctctacgt caccctgatg ccgaatacag ggccagagtc tgagatcctt
    1080
    ctgggtggtt tctgtgtttt gttcatttct gttttaagag cctgtcacag agaaatgctt
    1140
35  cctaaaatgt ttaatttata aaaacatttt tatctctcga ttactgggtt taatgaatta
    1200
    ctaagctggc tgccctctcat gtaccacag
    1230

40  <210> 69
    <211> 3035
    <212> ADN
    <213> Homo sapiens

45  <400> 69
    gtgagtgccca ctttagccat aagcaggctt cttgtgcttg ttgcctgggt tgatttctaa 60
    tatgctgcat ttatcaactg catgccacat tgtgaccgcc agcatttgcc ctttgaatta
    120
50  ttattatggt ttatttaca aaagcgaagg tagtaaccga actaaattat ctaggaacaa
    180
    acgtttggag agtcttctaa caccgtgcaa agcacgtcat tacagacatt tgtttactga
    240
    tttagaacct taatatttaa tttaaatagc actttacact tactgatgaa atgcttttcc
55  300
    tttctttctc tcccagcccc tgtacttaag tgcttcaata ggctctcatt atatatgatt
    360
    tttaggtttt gcttatcagc ttcttcgctt ttataatctg aaaagatggc atatgaattt
    420
60  ttataaaaag ggacacttct ttctctcaca attgtatatt tttattgtac tttccttcaa
    480
    aacccctttt taaaaagtaa gcagtggata aataaattca gtgaagcatc catatgaccc
    540
    ttaagtgagt gtagggaag ggaggtcacc agatcactgt gagtgaagat ggtggagagg
65  600
    tgaggatctt atgaggccgt gctcaaggct ggtagagggt ggtagtggt tccagggtta
    660

```

ggcagaatct cagctgaggt catgaaacaa cagtgatctc tgaaaaatta tggcaaggtg
 720
 ggaaggtgct ggagaattgg agagggggca aacttgactt tcaagtttca atgggaagat
 780
 5 aggtgactct gcacaccaca gaacagtgag catgataacc tgtttataca aggttctaga
 840
 gcagatttct aaatggatag ctactgtgtg cttgtttgtt cttaattagt attggatagt
 900
 tactaaatac ttgttagtac ttagtacata atgggtggtg aatcctagca gctaatttg
 10 960
 gttcccaaat aaccagatga caaggataga gaaggacaca gacacggcct atctggattt
 1020
 catgtgcct ttcattttcc acatgaaggt tgtgtaggga agatagaagc atgagatgag
 1080
 15 atgataatat agttatctgg attcatcact ggcagctga accatatgaa ctcatggatt
 1140
 gatgctagct taggaaggct ctgtaggagc cagaactggg ctgagagcca gcccatagag
 1200
 acaaaagagg cccggccctg acatcagagg gtccaacat gatgtctgag ccccacctac
 20 1260
 agtctgccgg aggtgggtgg aaggaagagc ctttatcctt acaattctta ctgaaattca
 1320
 aatttttagg ttttgcaaaa aaatgggtga cctgaaggaa atttgacagg agcatgtctc
 1380
 25 agctgtatct aaatttgtct cagccaatcc ctttttgaat gttcagagtg taagcttcag
 1440
 gagggcagcg cgtcttagtg tgacttttct ggtcagttca ggtgctttta ggagacaatt
 1500
 agagatcaat ctggaaaact tcatttgaat ttttaataca taagaaaaca ataagaaata
 30 1560
 gttaaaaata tatatttata atatatatat gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt
 1620
 atatatatat attttattta tttatttttt tttagatgg agtctcgctc tgttggccag
 1680
 35 gctggagtgc agtggctcaa tcttggctca ctgccacctc tgcctcccag gttcaagtga
 1740
 ttctcctacc tcagcctcct gagtagctgg gattacaagc atgtgccacc aactggcta
 1800
 atttttctaa ttttagtaga gatggagttt caccatgttg gacaggatgg tcttgaactc
 40 1860
 ctgacttagt gatccaccg ccttcgcctc ccaaagttct gggattacag gcatgagcca
 1920
 tcgtgcctgg caattatatt taatatttaa taataaggaa ataattgctg taactttact
 1980
 45 ttaaatgtg gaattctgaa actggaaggg aactggaat gacttggtga atcaaatcat
 2040
 tttaaacttt tattttgcca gtggaaaaa taagcccca aaagagcagg ggacctgctg
 2100
 atgtcccaca gtaattcaga gctggagatg aggttgaagg ctttgtgtct tatctccagg
 50 2160
 gaaaatttgt agacagcgta gctctttatg tgacgagcat tctcacccca gtcaccccc
 2220
 aattctctac tcatttgaga acataaattg gatcttgcca gtctctactc atttttcagc
 2280
 55 acatcgagca taagatccag actctttccc aggcctctct catctggctc ctctcctcct
 2340
 cttttatcat tactcttctt cgtagcttat cctactccag ccatgctgtc ttcttattat
 2400
 tcctaaaaag tagaaatgca tttcttccca gggcctttgt acctgcactt gccatcgctt
 60 2460
 ttgctcagaa tgttcttttt gccaaacttt tgcccagctt gttctccatc attgttatgt
 2520
 tttggctgaa atgtcttctc ttagtaggtt cattctcccc agtcaactgtc tttttatttt
 2580
 65 gctttatttt gggccatcta aggttatctt attagtgtat ttgttggtcg tctcctccat
 2640
 gggcatcac ctccatgaag gcaggatatt tcaccttagg ccctcgaata tactggacag
 2700

catctggcac gtagtagatg ctcaacgaat gtttgtgtg tgagcaaatg gttggttgat
 2760
 tggattgaac tgagttcagt atgtaatat ttagggcctc tttgcattct attttactta
 2820
 5 tgtataaaat gatacataat gatgatataa atgatgtcac agtgtacaag gctgtgtgtg
 2880
 gatcaagcaa tcaaatgaga tcatgcttgt cttttccaaa tggtgaggga atagatgcat
 2940
 10 gtttgtggtt gttacggaat gatcctgtgc tcctgaggca acagaaaggc caggccatct
 3000
 ctggtaatcc tactcttgct gtcttccctt tgcag
 3035

15 <210> 70
 <211> 342
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 70
 gtgagtcact ttcagggggt gattgggcag aaggggtgca ggatgggctg gtagcttccg 60
 cttggaagca ggaatgagt agatatcatg ttgggagggt ctgtttcagt cttttttgtt
 120
 ttttgttttt ttttctgagg cggagtcttg ctctgtcgcc caggctggag tgctgtggca
 180
 25 tgatcttgcc tcaactgcaac ctccacctcc caggttcaag cgattctcct gcctcagcct
 240
 cctgagtagc tgggattaca ggcacgcacc accatgtctg gctaattttt gtgttttttag
 300
 30 tagagatagg gtttcgccgt gttggctagg ctggtctgga at
 342

<210> 71
 35 <211> 1182
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 71
 40 gaattcctga cctcaggtga tccaccgcc tgggctccc aaagtgtctg gattacaggc 60
 gtgagccact acgccagcc ctgtttcagt ctttaactcg cttcttgta taagaaaaag
 120
 catgtgagtt ttgaggggag aaggttttga ccacactgtg cccatgcctg tcccacagca
 180
 45 gtaaaagtcac aggacagact gtggcaggcc tggcttcaa tcttggtct gcaacaaatg
 240
 agctggtagc ctttgacagg cctgggcctg tttcttcacc tctgaattag ggaggctgga
 300
 ccagaaaact cctgtggatc ttgtcaactc tggattctt agagactctg tttgggaagg
 360
 50 agtcctgagc cttttttttt ttcttgagaa ttccaggaag aggagtgtt atgatagctc
 420
 tctgctgctt ttatcagcaa ccaaattgca ggatgaggac aagcaattct aaatgagtac
 480
 55 aggaactaaa agaaggcttg gttaccactc ttgaaaataa tagctagtcc aggtgcgggg
 540
 tggctcacac ctgtaatctc agtatttttg gatgccgagg tggactgac acctaaaggtc
 600
 aggagttcga aaccagcttg gccaatgttg cgaaaccctg tctctactaa aaattcaaaa
 660
 60 attagccagg catggtggca catgcctgta atcccagtta cttgggaggc tgaagcagga
 720
 gaattgcttg aacctgggag gtggaggtcg caggagacca aaattgcgcc actgtactcc
 780
 65 agcctgagca acacagcaaa actccatata aaaaaataaa atgaataaaa taacagctaa
 840
 tctagtcac agtataactc cagtgaacag aagatttatt aggcatagtg aatgatggtg
 900

cttcctaaaa atctcttgac tacaaagaat ctcattttcaa tgtttattgt ttagatgttc
960
agaataaatt cttgggaaag accttggtt ggtgtaagt aattaccagt gccgaggga
1020
5 ggggtgaacca agtctcagt ctggttgact gagggcagt tctgggacct gtagtcaggt
1080
ttccgggtcac actgtggaca tggctcactgt tgtccttgat ttgttttctg tttcaattct
1140
tgtctataaa gacccgtatg cttgggtttc atgtgatgac ag
10 1182

<210> 72
<211> 1309
15 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 72
gtgacttttt actaaacttg gccctgccg tattattact aattagagga attaaagacc 60
20 tacaaataac agactgaaac agtgggggaa atgccagatt atggcctgat tctgtctatt
120
ggaagtttag gatattatcc caaactagaa aagatgacga gagggactgt gaacattcag
180
25 ttgtcagctt caaggctgag gcagcctggt ctagaatgaa aatagaaatg gattcaacgt
240
caaattttgc cacttagtag caacttgacc aggttaactgg ttatcctttt aaagccttag
300
tttatctaaa ttgtgatatt aatgttgctc ttataagttt gtcattgagga cttaaattaaa
360
30 tgggtgtacat agagtgcctt ggggtactctc tgatggggga ctccatgata atttgtggtc
420
tcatggaggg agctctggga aggttttagga gcctgccttg gctctgcagc cttgggagag
480
ccttctagct tcccaggaca tggcagccta gtgttgaaatg cttggctcag caaatgtttg
35 540
ttctcgtttc cttcccatca acttggtcag ttggggctctt tcagtttagga gtatctcagt
600
gacttttaaat ggcattggga tgctggagt atagtaccca tgagtttcta agaaagaagc
660
40 ataatttctc catatgtcat ccacaattga aatattattg ttaattgaaa aagcttctag
720
gccaggcacg gtgggtcatg cctgtaatcc cagcacttta ggaggccaag gcgggtggat
780
cacttgaggt caggagtttg agaccagcct ggccaacatg gggaaaccct gtctctacta
45 840
aaaatacaaa ataagctggg cgtggtggtg cgtgcctgta atcccagcta cttgggaggc
900
tgaggcagga gaattgcttg aatctgggag gcggaggttg cagttagctg agttcatgcc
960
50 attgcattcc agcctgggca acaagagcga aaccatctcc caaaagaaaa aaaaaagaaa
1020
gaaaaagctt ctagtttggt tacatcttgg tctataaggt ggtttgtaaa ttggtttaac
1080
ccaaggcctg gttctcatat aagtaatagg gtatttatga tggagagaag gctggaagag
1140
55 gcctgaacac aggcctcttt tctctagcac aaccctacaa ggccagctga ttctaggggt
1200
atttctgtcc gttccttata tctcaggtg gatatttact ctttttgcatt cattaggaat
1260
60 aggcctcagt ctttcttga actgattttt tgtttctttg tctctgcag
1309

<210> 73
65 <211> 1124
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 73
 gtaagttgct gtctttctgg cacgtttagc tcagggggag gatgggtgtg taggtgtctt 60
 ggattgaaga aagccttggg gattgtttgt cactcacaca ctgtgggtg ccatctcact
 120
 5 gtgaggagga cagaagccct gtgaacatgt ggagcacaca ggggcacaga cagatttaga
 180
 ttaggcctgc tttatagagt ttctgcctag agcatcatgg ctcatgccc agcagccct
 240
 ccagaggcct ctgaaatatt tgatatactg atttccttga ggagaatcag aaatctctg
 300
 10 cagggtgtcta gggatttcaa gtaagtagtg ttgtgagggg aatacctact tgtactttcc
 360
 ccccaacca gattcccgag gcttcttaag gactcaagga caatttctag gcatttagca
 420
 15 cgggactaaa aaggtcttag aggaaataag aagcgccaaa accatctctt tgcactgtat
 480
 ttcaacccat ttgtccttct gggttttgaa ggaacaggtg ggactgggga cagaagagtt
 540
 cttgaagcca gtttgtccat catggaaaat gagataggtg atgtggctac gtcagggggc
 600
 20 ccgaaggctc cttgttactg atttccgtct ttctctctg ccttttccc aagggccag
 660
 acccctggat ctctggcag agcagacgca ggcccctata atagccctca tgctagaaag
 720
 25 gagccggagc ctgtgtataa ggccagcgca gcctactctg gacagtgcag ggttccact
 780
 ctcccaactc cccatctgct tgcctccaga cccacattca cacacgagcc actgggttg
 840
 aggagcatct gtgagatgaa acaccattct ttccatcatg tctcagctat ctaactgtgt
 900
 30 gtgtaatcag gccaggctct ccctgctggg cagaaacat gggagttaag agattgccaa
 960
 catthattag aggaagctga cgtgtactt ctctgagga aaatttagcc ctctttgaa
 1020
 35 caggaatttg actcagtga ccttgtacac actegcactg agtctgctgc tgatgatact
 1080
 gtgcacccca ctgtctgggt ttaaatgtca ggctgttctt ttag
 1124
 40
 <210> 74
 <211> 1472
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 74
 gtaaaatatct atcgtaatat gtatcagaaa aatgggcatg tagctgctgg gatataggag
 60
 tagttggcag gttaaacgga tcacctggca gtcattgtt ctgaatatgt tggcatacag
 120
 50 agccgtcttt ggcatttagc gatttgagcc agacaaaact gaattactta gttgtacgtt
 180
 taaaagtgtg ggtcaaaaac aaatccagag gccaggagct gtggtcatg cctgtaatcc
 240
 55 tagcactttg ggaggccgaa gcgggtggat cacttgaggt caggagtctg agaccagcct
 300
 ggcctacatg acaaaacccc gtatctacta aaaatacaaa aaaattagct gggcttgggt
 360
 gcacacacct gtaatcccag ctacttggga ggctgaggca ggagaattgc ttgaaccctg
 420
 60 taggaagagg ttgtagttag ccaagatcgc accgttgac tccagcctgg gcaacaagag
 480
 caaaactcca tctcaaaaaa caaattaaat ccagagattt aaaagctctc agaggctggg
 540
 65 cgcggtggct tacacctgtt atcccagcat tttgggatgc cgaggcgggc aaagcacaag
 600
 gtcaggagtt tgagaccagc ctggccaaca tagtgaaacc ctgtctctgc taaaaacata
 660

gaaaaaattag ccgggcatgg tggcgtgcgc ctgtaatccc agctactcgg gaggctgagg
 720
 tgagagaatt acttgaaccc gggaggcgga ggttgcaagt agcccagatt gcaccactgc
 780
 5 actccagcct gggcgacaga gcaagactcc atctcaaaaa aagctctcag aacaaccagg
 840
 tttaacaatt tggtcagttg gtaataaac tgggtttcaa acatactttg ctgaacaat
 900
 10 cactgactaa ataggaaatg aatctttttt tttttttttt aagctggcaa gctggtctgt
 960
 aggacctgat aagtactcac ttcatttctc tgtgtctcag gtttccatt tttaggtgag
 1020
 aattaagggg ctctgataaa acagacccta ggattgtgga cagcagtgat agtcctagag
 1080
 15 tccacaagtc tgcttttgag tgatgggccc atgtatctgg cacatctgca ggcagagcgt
 1140
 ggttctggct cttcagatga tgccggtgga gcactttgag gagtcctcac cccaccgtga
 1200
 taaccagaca ttaaaatctt ggggctttgc atcccaggat ttctctgtga ttccttctag
 1260
 20 acttgtggca tcatggcagc atcactgctg tagatttcta gtcacttggg tctcaggagc
 1320
 cgtttattta atggcttcac atttaatttc agtgaacaag gtagtggcat tgctcttcac
 1380
 25 agggccgtcc tgttgtccac aggttccaga ttgactgttg ccccttatct atgtgaacag
 1440
 tcacaactga ggcaggtttc tgttgtttac ag
 1472
 30
 <210> 75
 <211> 292
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 75
 gtaaacgcgt gtctttgttc tagtagcttt ttgatgaaca ataatcctta tgtttcctgg 60
 agtactttca actcatggta aagttggcag gggcattcac aacagaaaag agcaaactat
 120
 40 taactttacc agtgaggcag tacggtgtag tgtagtgatt cagagaattt gctttgccac
 180
 cagacatacc aggtaacctt gactaagtta cttaacctat ctaaacctca gttccctcat
 240
 ctgtgaaatg gagacagtaa tcatagctat ttccaaactg ttgtgagaat tc
 292
 45
 <210> 76
 <211> 235
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 76
 gaattcaatg agttaaggt ataaggctct caccacagcg cctgcccaca tagtcagtga 60
 55 tcactatgtc ctgaacactg taattacttc gccatattct ctgatcatag tgttttgct
 120
 tggtagtgta ctagaatttc tttctgaggt ttatgggcat ggttgggtgg tatgcacctg
 180
 cctgcaggag cccggttttg gggcattacc ttgtacctgg tatgttttct ttcag
 235
 60
 <210> 77
 <211> 240
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 65
 <400> 77

gtaagtgtgg ctgtgtctgt atagatggag tggggcaagg gagaggggta tggagaaggg 60
 gagaaaaatg tgaatctcat ttaggggaa cagctgcaga gaccgttata ttatgataaa
 120
 tctggattga tccaggctct gggcagaagt gataagtta cgaattggct gggtgggctt
 5 180
 cttgaactgc agaagagaaa atgacactga tatgtaaaaa tcgtaacatt tagtgaattc
 240

10 <210> 78
 <211> 988
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

15 <400> 78
 gaattcatat aaagtgagtt caaaaattgt taattaaatt ataatttaata tataagtgtt 60
 taatcagttt gatttgttta aaaaccactg ttttaaattt ggtggaatat gtttttatta
 120
 gcttgtatct ttaattccta aattaagctg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg
 20 180
 tgtgtgtgtg aagtttaaaag ccaggatgag ctagttaaaa gtatgcagcc tttggagtca
 240
 tacagatctg ggtttgaatc tggctcttaa actttataga tgtatgatat taaatgaggg
 300
 25 agttcatgta aattgccaaag cccagcactc agcacagagt tgatatttca cacacattag
 360
 atacctttcc tgtatgtgga gcatggcagt tctgttttct gctttactcc tacaggatac
 420
 taatatagga cactaggatc tttataccaa gaccccatgt aatgggctta tgagaccatt
 30 480
 cttcttataa aaatctgaca gaatttttgt atgtgttaga tcaataggct gcatactgtt
 540
 attttcaagt tgatttacag ccagaaatat taatttattt gagtagttac agagtaatat
 600
 35 ttctgtcttc atttagtttt caagcccccac tagtcctttg tgtgtgaaaa tttacaactt
 660
 actgctctta caaggtcatg aacagtggac caaagtgaat gccattaacc actctgactt
 720
 ccttcattag ttttattgtg acagtggact cttttgacct cagtaatacc agtttggcat
 40 780
 ttacattgtc atatttttag acttaaaaat gatcatctta accctgaata aaatgtgtct
 840
 ggtgaacaga tgttttttct tgggtgtgac ctcagatata tctgtgtgtg gtgtacgtgt
 900
 45 gtgtttgtct gtgtgtccat gtcctcactg attgagccct agctgcatca aaagaccctt
 960
 cagattttca cagcgttttt ctctccag
 988

50 <210> 79
 <211> 498
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

55 <400> 79
 gtaaggacac aggcctgctg tatctttctg atgtctgtca gggccatgga ttgatatgga 60
 taagaaagaa agagctctgg ctatcatcag gaaatgttcc agctactcta aagatgtatg
 120
 60 aaaaagaaat agccagaggc aggtgatcac tttcatgaca ccaaacacag cattgggtac
 180
 cagagttcat gtcacaccag agggaaaatt ctgtacacaa tgatgaaaaa taataccact
 240
 accacttaag ttcctatgtg acaactttcc caagaatcag agagatacaa gtcaaaactc
 300
 65 caagtcaatg cctctaactt ctctgatggg ttttaacctc cagagtcaga atgttctttg
 360

ccttactagg aaagccatct gtcatttgaa aactctgtac attttatcag cagcttatcc
420
atccattgca aatatgtttt tgtgccagcc acaatatatt gcttctatct ggaccaatag
480
5 ggggatttga aggaattc
498

<210> 80
10 <211> 544
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 80
15 gaattctcat aattgtccta tcgtcaagtc tttatttctg cattttactg cttgatacac 60
tgtcaggaca gactttaaaa ttattctcag tgcgatgaaa caattctgac attcatgtta
120
tgagcagtta cctcataaat agattacatg tgagattgaa cttgggcaga ctataatata
180
20 gcattaatga cgaaacagac acagtcacatc tcgggaagaa gaatagaggc ttatttgctg
240
cctgtgaaat taaaattact ctgactggga atccatcggt cagtaagttt actgagtgtg
300
acaccttggc ttgactgttg gaaagacaga aagggcattgt agtttataaa atcagccaag
25 360
gggaaaatgc ttgtcaaaat gtattgtcgg gtattttgat taatagttaa tgtggcttca
420
ttaattcaga gttactctcc aatatgttta tctgcccttt cttgtctgat aatggtgaaa
480
30 acttgtgtga tgcattgtat atttgattta ggggtgaact ggatgtcttt gttttcactt
540
ttag
544

35 <210> 81
<211> 111
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 81
gtaagtcacc tctgagttag ggagctgcac agtggataag gcatttggtg cccagtgta 60
gaaggagggc agggactctc agtagacact tatctttttg tgtctcaaca g
111

45 <210> 82
<211> 363
<212> ADN
50 <213> Homo sapiens

<400> 82
gtgagtcatt cagagagaac actcctgctg ggatgagcat ctctgggagc cagaggacag 60
tgtttaattg tgatcttatt ccacttgtca gtggtattga cactgctgac tgccttgtcc
120
55 tgtcttcaga gtctgtcttc cctgagaagg caaagcacct ttctttcttg ctgtgcctta
180
cattttgctg gtcaagcctt tcagtttctt ttgacagttt tttttacttc tttctttttt
240
60 caatgttgct cttaccaaga gtagctcttc tgccttccac ttacacatg agagctgggc
300
gacgccattc agtectaagg cttttaccat cacctctctt ggtgttttta ttgtcatctc
360
taa
65 363

<210> 83

<211> 434
<212> ADN
<213> Homo sapiens

5 <400> 83
tttaattgat tcactaggat atatgtact gaaaggggaa tctgcttaaa gtgctttctg 60
atatttatta ttactaaaac ttagaattta ttaaaaatac tgactgtgaa aaattacttg
120
ggtcgtttgc ctttttaaaa ggatttttgg catgtctcat taaaaaaga aatactagat
10 180
atcttcagtg aagttacaaa tcgaatacac attggctctg aaattctgat tgatactggg
240
tcataaaaag ttttcccaaa tcagacttgg aaagtgatca ctctcttggt actctttttt
300
15 ccttgtcatg ggtgatagcc atttgtgttt attggaagat cgggaattt taaggaacat
360
aggcccaaat ttgaggaagg gccatggttt ttgatccctc cattctgacc ggatctctgc
420
attgtgtcta ctag
20 434

<210> 84
<211> 264
25 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 84
gtgagctttt tcttagaacc cgtggagcac ctggttgagg gtcacagagg aggcgcacag 60
30 ggaaacactc accaatgggg gtgtcattga actgaactca aaatatgtga taaaactgat
120
tttccctgatg tgggcatccc gcagccccct ccttgcccat cctggagact gtggcaagta
180
ggttttataa tactacgtta gagactgaat ctttgtcctg aaaaatagtt tgaaaggttc
35 240
atttttcttg ttttttcccc caag
264

40 <210> 85
<211> 175
<212> ADN
<213> Homo sapiens

45 <400> 85
gtgagagagt acagggttaca atagctcatc ttcagttttt ttcagcttta tgtgctgtaa 60
cccagcagtt tgctgacttg cttaataaaa gggcatgtgt tcccaaaatg tacatctata
120
ccaaggttct gtcaatttta ttttaaaaac accatggaga cttcttaaag aattc
50 175

<210> 86
<211> 588
55 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 86
gaattcccat tctcgaatac attggtttta tatgcttaca tttatgtgtt agttattaaa 60
60 acatactaata attgtatatc tagtcaaaac tgaggtagag agaataaatg gttgattttg
120
agtttgagtt tcatagtcca aaaagctgat atattgcctg tgttcaagag ggtctatata
180
agccctctag atgccagcat ctccaaattt tacttttttg gaatctgtac agtatttgca
65 240
atatttttat tacaaaattc tactctgtgg aatttaattt ttaaaatacc tgcaatacat
300

atatatgttg aatagatgaa aaattatgta gataataatg aatgatacgg ttctaaaaag
360
acagggttaaa aagtaagttc acttttattt tgagcttcag aatcattcag aagccagtcg
420
5 ccacaaacgc agaccaaggc tcttggcaca tcaaataatgc ctatggctta gggttattga
480
caagtcttat gttgcagtgt atgtggttta tagtcctgcc ttccacagtt gcttgggaga
540
gctgtgagtc actgaggctt atgaatgttt acattttgtt tgttgag
10 588

<210> 87
<211> 78
15 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 87
gtaaagacac tttgtctata ttgcgtttgt ccttattagt tcagactatc tctacccaat 60
20 caagcaacga tgctcgtt 78

<210> 88
<211> 376
25 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 88
acatgtgccg gtactggtga gagcgcaagc ttggagtgca aacacaaatg ggtttgcac 60
30 ctggccctac caattatgag ctctgagcca tgggcaagtg actaactccc tgggcctcag
120
tttctctgta acatctgtca gacttcatgg gtccagggtga ggattaaagg agatcatgta
180
tttacagcac atggcatggg gcttcacata aaataagtat ttagtaaatg ataactgggt
35 240
ccttctctca gaaacttatt tctgggcctg ccagggggccg ccttttttca tggcacaagt
300
tgggttccca gggttcagta ttcttttaaa tagttttctg gagatcctcc atttgggtat
360
40 tttttcctgc tttcag
376

<210> 89
45 <211> 111
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 89
50 gtaagctttg agtgtaaaaa cagatttact tctcagggtg tggattcctg ccccgacact 60
cccgcccata ggtccaagag cagtttgtat ctggaattgg tgcttgaatt c
111

<210> 90
55 <211> 2264
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 90
60 ctgtatagta atcattgact aaagccattt gtctgtgttt tcttcttggt gttgtatata 60
tcaggtaaaa ttttttcaa agagccatgt gtcagtgaat actgaaccac tttgatattg
120
agacattaat ttgtaccctg tgttattatc tactagtaat aatgtaatac tgtagaaata
180
65 ttgtctaat tcttttcaaa attgttgcac ccccttaga atgtttctat ttccataagg
240

atttaggtat gctattatcc cttcttatac cctaagatga agctgttttt gtgctctttg
 300
 ttcacatttg gccctcattc caagcacttt acgctgtctg taatgggac ttttttgca
 360
 5 ctggaatatc tgagaattgc aaaactagac aaaagtttca caacagattt tctaagttaa
 420
 atcattttca ttaaaaggaa aaaagaaaaa aaatttttgt atgtcaataa cctttatatg
 480
 10 aagtattaaa atgcattttt ctatgttgta atataatgag tcacaaaata aagctgtgac
 540
 agttctgttg gtctacagaa atttactttt gtgcatttgt ggcaccacct actgttgaag
 600
 gggtataaag ccattagaaa agtagagggg aagtgatttg gatcaaaagg aaaaacttta
 660
 15 gaaaagattc aaatgttccc ttaatcataa aagagaactg aggggactac ttgaaaataa
 720
 aagggtgttt tgtattttca tgttggttaa gatactgagt aactggtaact aagtgttaga
 780
 20 gggtttttaga taaatattct gcttaatgat tatgaagctg cactgagatt tctgaaaatg
 840
 ctctgtagct gagcttattt aataaatgtt cacttggtat aggggaagct acaaaggcag
 900
 ccttcagtgt ccttttgttt attcaaccaa aaatataagg acacaatgta gcagttatac
 960
 25 tgggaagggtg ctgggggttg tggcaatggt gagcaggaag gcgaagtaga tatggaaaca
 1020
 gaaatgatac taatatcggg gattccttcc ttttttctg taataagtgc tgtgcagaca
 1080
 acatatgagc agtgcgtgata aatgtaaatg ttttttcat agctcattaa gaatcagttt
 1140
 30 cagaaaagaga tgtctgctta ttttgctact tgaagaatcc ctgtcaaaca gtccttttga
 1200
 ggaagtacaa gaggtgtctt ctatttgtga cctcaggaat ggctgtgaca gtgtcgtgag
 1260
 35 cagtcctttt cctgtggcac agatctgaac tttgtgtgca gaaaaatctt ggcttcaagt
 1320
 gagccaagat gccccctgag catcagcatc acaacttcac cctcctatct tgaagtcat
 1380
 40 gttatagtga ctttaatgaa atcatagaac actgtttctt cgtgaacaat gacgagggag
 1440
 agggaaaaaac tttattgaaa aataaaaagg caggtaattt agatgaaaat atgttaccca
 1500
 tgagggtttg tttttgcttt ttgttttgt ttttgagaaa cagaatctcg ctctgtcgtc
 1560
 45 caggctggag tgcagcggca tgatcttggc tcaactgcaac ctccgcctcc cgggttcaag
 1620
 cgattctcct cagcttccca agtagctggc actacaggca tgcgccacca caaccagcta
 1680
 50 atttttgtat ttttagtaga gatgggggtt cactatacgt tggccaggct ggtctcaaac
 1740
 tcctgacctt aggtgatcct tctgccttgg gctcccaaag tgctgggatt acaggcatga
 1800
 gccaccttgc ctggccctac ccattgagcct tgactaaaac attcttctat ctgtagaaaa
 1860
 55 gcccaaaaga acttttccag attcaaaaaa cttggcactt tgtaatggta atgtttacat
 1920
 taagtaaaaa aaaaaaaaaa aaaccacatt agcttcagtt ttcaagtgtt tactgtgttg
 1980
 60 tcatgcactt catttaattc tcaacacctg ccctatgagg taaaaagtac cattttacat
 2040
 atgagtaaat tacagctcag tggataagaa actcgtccaa aggtacaggc tcagtcaagt
 2100
 ggcagagggt tctttttgtt gaagttaggt atcagttaaa attgaccttg taaaatcaca
 2160
 65 tcagcatcaa tatacattaa tttaacaaat atttattgaa ctttactgta tgccagatac
 2220
 ttctctaggt actagggggg acaatgtaga agaaaataga attc
 2264

<210> 91
<211> 9497
5 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 91
10 caaacatgtc agctgttact ggaagtggcc tggcctctat ttatcttcct gatcctgac 60
tctgttcggc tgagctaccc accctatgaa caacatgaat gccattttcc aaataaagcc
120
atgccctctg caggaacact tccttgggtt caggggatta tctgtaatgc caacaacccc
180
tggtttccgtt acccgactcc tggggaggct cccggagttg ttggaaactt taacaaatcc
15 240
attgtggctc gcctgttctc agatgctcgg aggcttcttt tatacagcca gaaagacacc
300
agcatgaagg acatgcgcaa agttctgaga acattacagc agatcaagaa atccagctca
360
20 aacttgaagc ttcaagattt cctgggtggac aatgaaacct tctctgggtt cctgtatcac
420
aacctctctc tcccaaagtc tactgtggac aagatgctga gggctgatgt cattctccac
480
aaggatattt tgcaaggcta ccagttacat ttgacaagtc tgtgcaatgg atcaaaatca
25 540
gaagagatga ttcaacttgg tgaccaagaa gtttctgagc tttgtggcct accaagggag
600
aaactggctg cagcagagcg agtacttcgt tccaacatgg acatcctgaa gccaatcctg
660
30 agaacactaa actctacatc tcccttcccg agcaaggagc tggccgaagc cacaaaaaca
720
ttgtctcata gtcttgggac tctgcccag gagctgttca gcatgagaag ctggagtgc
780
atgcgacagg aggtgatgtt tctgaccaat gtgaacagct ccagctcctc caccctaatc
840
35 taccaggctg tgtctcgtat tgtctcggg catcccagg gaggggggct gaagatcaag
900
tctctcaact ggtatgagga caacaactac aaagccctct ttggaggcaa tggcactgag
960
40 gaagatgctg aaaccttcta tgacaactct acaactcctt actgcaatga tttgatgaag
1020
aatttgaggt ctagtctctt tccccgatt atctggaaag ctctgaagcc gctgctcgtt
1080
gggaagatcc tgtatacacc tgacactcca gccacaaggc aggtcatggc tgaggtgaac
45 1140
aagaccttcc aggaactggc tgtgttccat gatctggaag gcatgtggga ggaactcagc
1200
cccaagatct ggaccttcat ggagaacagc caagaaatgg accttgtccg gatgctgttg
1260
50 gacagcaggg acaatgacca cttttgggaa cagcagttgg atggcttaga ttggacagcc
1320
caagacatcg tggcgttttt ggccaagcac ccagaggatg tccagtccag taatggttct
1380
gtgtacacct ggagagaagc tttcaacgag actaaccagg caatccggac catatctcgc
55 1440
ttcatggagt gtgtcaacct gaacaagcta gaaccatag caacagaagt ctggctcatc
1500
aacaagtcca tggagctgct ggatgagagg aagttctggg ctggtattgt gttcactgga
1560
60 attactccag gcagcattga gctgccccat catgtcaagt acaagatccg aatggacatt
1620
gacaatgtgg agaggacaaa taaaatcaag gatgggtact gggaccctgg tcctcgagct
1680
gaccctttg aggacatgcg gtacgtctgg gggggcttcg cctacttgca ggatgtgggtg
65 1740
gagcaggcaa tcatcagggt gctgacgggc accgagaaga aaactgggtg ctatatgcaa
1800

cagatgccct atccctgtta cgttgatgac atctttctgc gggatgatgag ccggtcaatg
 1860
 cccctcttca tgacgctggc ctggatttac tcagtggctg tgatcatcaa gggcatcgtg
 1920
 5 tatgagaagg aggcacggct gaaagagacc atgcggatca tgggcctgga caacagcatc
 1980
 ctctggttta gctggttcat tagtagcctc attcctcttc ttgtgagcgc tggcctgcta
 2040
 10 gtggtcatcc tgaagttagg aaacctgctg ccctacagtg atcccagcgt ggtgtttgtc
 2100
 ttctgtgccg tgtttgctgt ggtgacaatc ctgcagtgtc tcctgattag cacactcttc
 2160
 tccagagcca acctggcagc agcctgtggg ggcacatctc acttcacgct gtacctgccc
 2220
 15 tacgtccctg gtgtggcatg gcaggactac gtgggcttca cactcaagat cttecgctagc
 2280
 ctgctgtctc ctgtggcttt tgggtttggc tgtgagtact ttgccctttt tgaggagcag
 2340
 20 ggcattggag tgcagtggga caacctgttt gagagtccctg tggaggaaga tggcttcaat
 2400
 ctacaccatt cgggtctccat gatgctgttt gacaccttcc tctatggggt gatgacctgg
 2460
 tacattgagg ctgtctttcc aggccagtac ggaattccca ggccctggta ttttcttgc
 2520
 25 accaagtcct actggtttgg cgaggaaagt gatgagaaga gccaccttg ttccaaccag
 2580
 aagagaatat cagaaatctg catggaggag gaaccacccc acttgaagct gggcgtgtcc
 2640
 attcagaacc tggtaaaagt ctaccgagat gggatgaagg tggctgtcga tggcctggca
 2700
 30 ctgaattttt atgagggcca gatcacctcc ttcttgggcc acaatggagc ggggaagacg
 2760
 accaccatgt caatcctgac cgggttgttc ccccgacct cgggcaccgc ctacatcctg
 2820
 35 ggaagagaca ttctctctga gatgagcacc atccggcaga acctgggggt ctgtccccag
 2880
 cataacgtgc tgtttgacat gctgactgtc gaagaacaca tctggttcta tggccgcttg
 2940
 aaagggtctc ctgagaagca cgtgaaggcg gagatggagc agatggccct ggatgttggt
 3000
 40 ttgccatcaa gcaagctgaa aagcaaaaaca agccagctgt caggtggaat gcagagaaaq
 3060
 ctatctgtgg ccttggcctt tgtcggggga tctaagggtt tcattctgga tgaaccaca
 3120
 45 gctggtgtgg acccttactc ccgcagggga atatgggagc tgctgctgaa ataccgacaa
 3180
 ggccgcacca ttattctctc tacacaccac atggatgaag cggacgtcct gggggacagg
 3240
 attgccatca tctcccatgg gaagctgtgc tgtgtgggct cctccctgtt tctgaagaac
 3300
 50 cagctgggaa caggctacta cctgacctg gtcaagaaag atgtggaatc ctccctcagt
 3360
 tctgcagaa acagttagtag cactgtgtca tacctgaaa aggaggacag tgtttctcag
 3420
 55 agcagttctg atgtggcct gggcagcgac catgagagtg acacgctgac catcgatgtc
 3480
 tctgctatct ccaacctcat caggaagcat gtgtctgaag cccggctggg ggaagacata
 3540
 gggcatgagc tgacctatgt gctgccatat gaagctgcta aggagggagc ctttgtggaa
 3600
 60 ctctttcatg agattgatga ccgctctca gacctgggca tttctagtta tggcatctca
 3660
 gagacgaccc tggagaaaat attcctcaag gtggccgaag agagtggggg ggatgctgag
 3720
 65 acctcagatg gtaccttgcc agcaagacga aacaggcggg ccttcgggga caagcagagc
 3780
 tgtcttcgcc cgttactga agatgatgct gctgatccaa atgattctga catagacca
 3840

gaatccagag agacagactt gctcagtggg atggatggca aagggtccta ccaggtgaaa
 3900
 ggctggaaac ttacacagca acagtttgtg gcccttttgt ggaagagact gctaattgcc
 3960
 5 agacggagtc ggaaaggatt ttttgctcag attgtcttgc cagctgtgtt tgtctgcatt
 4020
 gcccttgtgt tcagcctgat cgtgccaccc ttgggcaagt accccagcct ggaacttcag
 4080
 10 ccctggatgt acaacgaaca gtacacattt gtcagcaatg atgtcctga ggacacggga
 4140
 accctggaac tcttaaacgc cctcaccaaa gaccctggct tcgggacccg ctgtatggaa
 4200
 ggaaacccaa tcccagacac gccctgccag gcaggggagg aagagtggac cactgcccc
 4260
 15 gttccccaga ccatcatgga cctcttcag aatgggaact ggacaatgca gaacccttca
 4320
 cctgcatgcc agtgtagcag cgacaaaatc aagaagatgc tgcctgtgtg tccccaggg
 4380
 gcaggggggc tgcctcctcc acaaagaaaa caaacactg cagatatacct tcaggacctg
 4440
 20 acaggaagaa acatttcgga ttatctggtg aagacgtatg tgcagatcat agccaaaagc
 4500
 ttaagaaca agatctgggt gaatgagttt aggtatggcg gcttttccct ggggtgcagt
 4560
 25 aatactcaag cacttcctcc gagtcaagaa gttaatgatg ccaccaaaca aatgaagaaa
 4620
 cacctaaagc tggccaagga cagttctgca gatcgatttc tcaacagctt gggaagattt
 4680
 atgacaggac tggacaccag aaataatgtc aagggtgtgt tcaataacaa gggctggcat
 4740
 30 gcaatcagct ctttcctgaa tgtcatcaac aatgccattc tccgggccaa cctgcaaaag
 4800
 ggagagaacc ctagccatta tgggaattact gctttcaatc atccctgaa tctaccaag
 4860
 35 cagcagctct cagaggtggc tccgatgacc acatcagtgg atgtccttgt gtccatctgt
 4920
 gtcatacttt caatgtcctt cgtcccagcc agctttgtcg taltcctgat ccaggagcgg
 4980
 gtcagcaaaag caaacacct gcagttcatc agtggagtga agcctgtcat ctactggctc
 5040
 40 tctaattttg tctgggatat gtgcaattac gttgtcccctg ccacactggc cattatcctc
 5100
 ttcatctgct tccagcagaa gtcctatgtg tccctcacca atctgcctgt gctagccctt
 5160
 45 ctacttttgc tgtatgggtg gtcaatcaca cctctcatgt acccagcctc ctttgtgttc
 5220
 aagatcccca gcacagccta tgtggtgctc accagcgtga acctcttcat tggcattaat
 5280
 ggcagcgtgg ccacctttgt gctggagctg ttcaccgaca ataagctgaa taatatcaat
 5340
 50 gatatactga agtccgtgtt cttgatcttc ccacattttt gcctgggacg agggctcctc
 5400
 gacatgggtg aaaaccaggc aatggctgat gccctggaaa ggtttgggga gaatcgcttt
 5460
 55 gtgtcaccat tatcttggga cttggtggga cgaaacctct tcgccatggc cgtggaaggg
 5520
 gtggtgttct tctcattac tgttctgac cagtacagat tcttcatcag gccagacct
 5580
 gtaaatgcaa agctatctcc tctgaatgat gaagatgaag atgtgaggcg ggaaagacag
 5640
 60 agaattcttg atggtggagg ccagaatgac atcttagaaa tcaaggagtt gacgaagata
 5700
 tataagaagga agcgggaagc tgctgttgac aggatttgcg tgggcattcc tctggtgag
 5760
 65 tgcttgggc tctgggagt taatggggct ggaaaatcat caactttcaa gatgttaaca
 5820
 ggagatacca ctgttaccag aggagatgct ttccttaaca gaaatagtat cttatcaaac
 5880

atccatgaag tacatcagaa catgggctac tgcctcagt ttgatgccat cacagagctg
 5940
 ttgactggga gagaacacgt ggagttcttt gcccttttga gaggagtccc agagaaagaa
 6000
 5 gttggcaagg ttggtgagtg ggcgattcgg aaactgggcc tcgtgaagta tggagaaaaa
 6060
 catgctggta actatagtgg aggcaacaaa cgcaagctct ctacagccat ggctttgatc
 6120
 10 ggcgggcctc ctgtggtgtt tctggatgaa cccaccacag gcatggatcc caaagcccgg
 6180
 cggttcttgt ggaattgtgc cctaagtgtt gtcaaggagg ggagatcagt agtgcttaca
 6240
 tctcatagta tggagaagt tgaagctctt tgcactagga tggcaatcat ggtcaatgga
 6300
 15 aggttcagggt gccttggcag tgtccagcat ctaaaaaata ggtttggaga tggttatata
 6360
 atagttgtac gaatagcagg gtccaacccg gacctgaagc ctgtccagga tttctttgga
 6420
 cttgcatttc ctggaagtgt tccaaaagag aaacaccgga acatgctaca ataccagctt
 6480
 20 ccatcttcat tatcttctct ggccaggata ttcagcatcc tctcccagag caaaaagcga
 6540
 ctccacatag aagactactc tgtttctcag acaacacttg accaagtatt tgtgaacttt
 6600
 25 gccaggacc aaagtgatga tgaccactta aaagacctct cattacacaa aaaccagaca
 6660
 gtatggacg ttgcagttct cacatctttc ctacaggatg agaaagtga agaaagctat
 6720
 gtatgaagaa tcctgttcat acgggggtggc tgaaagttaa gaggnactag actttccttt
 6780
 30 gcaccatgtg aagtgttgtg gagaaaagag ccagaagttg atgtgggaag aagtaaactg
 6840
 gatactgtac tgatactatt caatgcaatg caattcaatg caatgaaaac aaaattccat
 6900
 35 tacaggggca gtgcctttgt agcctatgtc ttgtatggct ctcaagtga agacttgaat
 6960
 ttagtttttt acctatacct atgtgaaact ctattatgga acccaatgga catatgggtt
 7020
 tgaactcaca cttttttttt ttttttgttc ctgtgtattc tcattggggt tgcaacaata
 7080
 40 attcatcaag taatcatggc cagcgattat tgatcaaat caaaaggtaa tgcacatcct
 7140
 cattcactaa gccatgccat gcccaggaga ctgggtttccc ggtgacacat ccattgctgg
 7200
 45 caatgagtgt gccagagtta ttagtgccaa gtttttcaga aagtttgaag caccatgggtg
 7260
 tgtcatgctc acttttgtga aagctgctct gctcagagtc tatcaacatt gaatatcagt
 7320
 tgacagaatg gtgccatgcg tggctaacat cctgctttga ttccctctga taagctgttc
 7380
 50 tgggtggcagt aacatgcaac aaaaatgtgg gtgtctctag gcacgggaaa cttggttcca
 7440
 ttgttatatt gtcctatgct tcgagccatg ggtctacagg gtcacctta tgagactctt
 7500
 55 aaatatactt agatcctggt aagaggcaaa gaatcaacag ccaaactgct ggggctgcaa
 7560
 gctgctgaag ccagggcagt ggattaaaga gattgtgcgt tcaaacctag ggaagcctgt
 7620
 gcccatthgt cctgactgtc tgctaacatg gtacactgca tctcaagatg tttatctgac
 7680
 60 acaagtgtat tatthctggc tttttgaatt aatctagaaa atgaaaagat ggagttgtat
 7740
 tttgacaaaa atgtttgtac tttttaatgt tatthggaat ttttaagttct atcagtgact
 7800
 65 tctgaatcct tagaatggcc tctthgtaga accctgtggt atagaggagt atggccactg
 7860
 cccactatt tttatthct tatgtaagt tgcatactag tcatgactag tgcctagaaa
 7920

gcaatgtgat ggtcaggatc tcatgacatt atatttgagt ttctttcaga tcatttagga
 7980
 tactcttaat ctcaattcat caatcaaata ttttttgagt gtatgctgta gctgaaagag
 8040
 5 tatgtacgta cgtataagac tagagagata ttaagtctca gtacacttcc tgtgccatgt
 8100
 tattcagctc actggtttac aaatataggt tgtcttggtg ttgtaggagc ccactgtaac
 8160
 10 aatactgggc agcctttttt ttttttttta attgcaacaa tgcaaaagcc aagaaagtat
 8220
 aagggtcaca agtctaaaca atgaattctt caacagggaa aacagctagc ttgaaaactt
 8280
 gctgaaaaac acaacttggt tttatggcat ttagtacctt caaataattg gctttgcaga
 8340
 15 tattggatac ccatttaa atgacagctc caaatttttc atctcttcaa tcaactagtca
 8400
 agaaaaatat aaaaacaaca aatacttcca tatggagcat ttttcagagt tttctaacc
 8460
 agtcttattt ttctagtcag taaacatttg taaaaatact gtttactaa tacttactgt
 8520
 20 taactgtctt gagagaaaag aaaaatatga gagaactatt gtttggggaa gttcaagtga
 8580
 tctttcaata tcattactaa ctctctccac tttttccaaa atttgaatat taacgctaaa
 8640
 25 ggtgtaagac ttcagatttc aaattaatct ttctatat tttaaattta cagaatatta
 8700
 tataaccacac tgctgaaaaa gaaaaaaatg attgttttag aagttaaaat caatattgat
 8760
 tttaaatata agtaatgaag gcataatttc aataactagt gatatggcat cgttgcat
 8820
 30 tacagtatct tcaaaaatac agaatttata gaataatttc tctcattta atatttttca
 8880
 aaatcaaagt tatggtttcc tcattttact aaaatcgtat tctaattctt cattatagta
 8940
 35 aatctatgag caactcctta ctctggttcc tctgatttca aggccatatt ttaaaaaatc
 9000
 aaaaggcact gtgaactatt ttgaagaaaa cacaacattt taatacagat tgaaaggacc
 9060
 40 tcttctgaag ctagaaacaa tctatagtta tacatcttca ttaatactgt gttacctttt
 9120
 aaaatagtaa ttttttacat ttctctgtgt aaacctaatt gtggtagaaa tttttaccaa
 9180
 ctctatactc aatcaagcaa aatttctgta tattccctgt ggaatgtacc tatgtgagtt
 9240
 45 tcagaaatc tcaaaatagc tgttcaaaaa tttctgcttt tgcattcttg ggacacctca
 9300
 gaaaacttat taacaactgt gaatatgaga aatacagaag aaaataataa gccctctata
 9360
 cataaatgcc cagcacaatt cattgtttaa aaacaaccaa acctcacact actgtatttc
 9420
 50 attatctgta ctgaaagcaa atgctttgtg actattaaat gttgcacatc attcattcaa
 9480
 aaaaaaaaaa aaaaaaa
 9497
 55
 <210> 92
 <211> 2617
 <212> ADN
 60 <213> Homo sapiens
 <400> 92
 CAATGAAA CAAAATTCCA TTACAGGGGC AGTGCCTTTG TAGCCTATGT CTTGTATGGC 60
 TCTCAAGTGA AAGACTTGAA TTAGTTTTT TACCTATACC TATGTGAAAC TCTATTATGG
 120
 AACCCAATGG ACATATGGGT TTGAACTCAC ACTTTTTTTT TTTTTTGTG CCTGTGTATT
 180

CTCATTGGGG TTGCAACAAT AATTCATCAA GIAATCATGG CCAGCGATTA TTGATCAAAA
 240
 TCAAAAAGGTA ATGCACATCC TCATTCACTA AGCCATGCCA TGCCCAGGAG ACTGGTTTCC
 300
 5 CGGTGACACA TCCATTGCTG GCAATGAGTG TGCCAGAGTT ATTAGTGCCA AGTTTTTCAG
 360
 AAAGTTTGAA GCACCATGGT GTGTCATGCT CACTTTTGTG AAAGCTGCTC TGCTCAGAGT
 420
 10 CTATCAACAT TGAATATCAG TTGACAGAAT GGTGCCATGC GTGGCTAACA TCCTGCTTTG
 480
 ATTCCCTCTG ATAAGCTGTT CTGGTGGCAG TAACATGCAA CAAAAATGTG GGTGTCTCTA
 540
 GGCACGGGAA ACTTGGTTCC ATTGTTATAT TGTCTATGC TTCGAGCCAT GGGTCTACAG
 600
 15 GGTCACTCTT ATGAGACTCT TAAATATACT TAGATCCTGG TAAGAGGCAA AGAATCAACA
 660
 GCCAAACTGC TGGGGCTGCA AGCTGCTGAA GCCAGGGCAT GGGATTAAAG AGATTGTGCG
 720
 TTCAAACCTA GGAAGCCTG TGCCCATTTG TCCTGACTGT CTGCTAACAT GGTACACTGC
 780
 20 ATCTCAAGAT GTTTATCTGA CACAAGTGTA TTATTCTTGG CTTTTTGAAT TAATCTAGAA
 840
 AATGAAAAGA TGGAGTTGTA TTTTGACAAA AATGTTTGTA CTTTTTAATG TTATTTGGAA
 900
 25 TTTTAAGTTC TATCAGTGAC TTCTGAATCC TTAGAATGGC CTCTTTGTAG AACCCTGTGG
 960
 TATAGAGGAG TATGGCCACT GCCCACTAT TTTTATTTTC TTATGTAAGT TTGCATATCA
 1020
 30 GTCATGACTA GTGCCTAGAA AGCAATGTGA TGGTCAGGAT CTCATGACAT TATATTTGAG
 1080
 TTTCTTTTCA ATCATTTAGG ATACTCTTAA TCTCACTTCA TCAATCAAAT ATTTTTTGAG
 1140
 TGTATGCTGT AGCTGAAAGA GTATGTACGT ACGTATAAGA CTAGAGAGAT ATTAAGTCTC
 1200
 35 AGTACACTTC CTGTGCCATG TTATTGAGCT CACTGGTTTA CAAATATAGG TTGTCTTGTTG
 1260
 GTTGTAGGAG CCCACTGTAA CAATACTGGG CAGCCTTTTT TTTTTTTTTT AATTGCAACA
 1320
 40 ATGCAAAAGC CAAGAAAGTA TAAGGCTCAC AAGTCTAAAC AATGAATTCT TCAACAGGGA
 1380
 AAACAGCTAG CTTGAAACT TGCTGAAAAA CACAACCTGT GTTTATGGCA TTTAGTACCT
 1440
 TCAAATAATT GGCTTTGCAG ATATTGGATA CCCCATTAAT TCTGACAGTC TCAAATTTTT
 1500
 45 CATCTCTTCA ATCACTAGTC AAGAAAAATA TAAAAACAAC AAATACTTCC ATATGGAGCA
 1560
 TTTTTCAGAG TTTTCTAACC CAGTCTTATT TTTCTAGTCA GTAAACATTI GTAAAAATAC
 1620
 TGTTTCACTA ATACTTACTG TTAACGTCTT TGAGAGAAAA GAAAAATATG AGAGAACTAT
 1680
 50 TGTTTGGGGA AGTTCAAGTG ATCTTTCAAT ATCATTACTA ACTTCTTCCA CTTTTTCCAA
 1740
 AATTTGAATA TTAACGCTAA AGGTGTAAGA CTTCAGATTI CAAATTAATC TTTCTATATT
 1800
 55 TTTTAAATTT ACAGAATATT ATATAACCCA CTGCTGAAAA AGAAAAAAT GATTGTTTTA
 1860
 GAAGTTAAAG TCAATATTGA TTTTAAATAT AAGTAATGAA GGCATATTTT CAATAACTAG
 1920
 TGATATGGCA TCGTTGCATT TTACAGTATC TTCAAAAATA CAGAATTTAT AGAATAATTT
 1980
 60 CTCCTCATTT AATATTTTTT AAAATCAAAG TTATGGTTTC CTCATTTTAC TAAAATCGTA
 2040
 TTCTAATTCT TCATTATAGT AAATCTATGA GCAACTCCTT ACTTCGGTTC CTCTGATTTT
 2100
 65 AAGGCCATAT TTTAAAAAAT CAAAAGGCAC TGTGAACAT TTTGAAGAAA ACACAACATT
 2160
 TTAATACAGA TTGAAAGGAC CTCTTCTGAA GCTAGAAACA ATCTATAGTT ATACATCTTC
 2220

ATTAATACTG TGTACCTTT TAAATAGTA ATTTTITACA TTTTCCTGTG TAAACCTAAT
 2280
 TGTGGTAGAA ATTTTACCA ACTCTATACT CAATCAAGCA AAATTCTGT ATATTCCCTG
 2340
 5 TGGAAATGTAC CTATGTGAGT TTCAGAAAT CTCAAAATAC GTGTTCAAAA ATTTCTGCTT
 2400
 TTGCATCTTT GGGACACCTC AGAAAACTTA TTAACAACCTG TGAATATGAG AAATACAGAA
 2460
 10 GAAAATAATA AGCCCTCTAT ACATAAATGC CCAGCACAAT TCATTGTTAA AAAACAACCA
 2520
 AACCTCACAC TACTGTATTT CATTATCTGT ACTGAAAGCA AATGCTTTGT GACTATTAA
 2580
 TGTGTCACAT CATTCATTCA AAAAAAAAAA AAAAAAAA
 2618
 15 2618

 <210> 93
 20 <211> 302
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 93
 25 tgtgtcaacc tgaacaagct agaaccata gcaacagaag tctggctcat caacaagtcc 60
 atggagctgc tggagtagag tggcgtgacc tcagctcact gcaacctctg cctcctgagt
 120
 tcaagtgatt ctcgtgcctc agcctcccaa gtagctggga ttacagctcc tgccaccacg
 180
 30 cccggggctg gtatttgtgt cactggaatt actccaggca gcattgagct gccccatcat
 240
 gtcaagtaca agatccgaat ggacattgac aatgtggaga ggacaaataa aatcaaggat
 300
 gg
 35 302

 <210> 94
 <211> 9593
 40 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

 <400> 94
 caaacatgtc agctgttact ggaagtggcc tggcctctat ttatcttctt gatcctgac 60
 45 tctgttcggc tgagctaccc accctatgaa caacatgaat gccatcttcc aaataaagcc
 120
 atgccctctg caggaacact tccttgggtt caggggatta tctgtaatgc caacaacccc
 180
 tgtttccggt acccgactcc tggggaggct cccggagttg ttggaaactt taacaaatcc
 50 240
 attgtggctc gcctgttctc agatgctcgg aggcttctt tatacagcca gaaagacacc
 300
 agcatgaagg acatgcgcaa agttctgaga acattacagc agatcaagaa atccagctca
 360
 55 aacttgaagc ttcaagattt cctggtggac aatgaaacct tctctgggtt cctgtatcac
 420
 aacctctctc tcccaaagtc tactgtggac aagatgctga gggctgatgt cattctccac
 480
 aaggatattt tgcaaggcta ccagttacat ttgacaagtc tgtgcaatgg atcaaaatca
 60 540
 gaagagatga ttcaacttgg tgaccaagaa gtttctgagc tttgtggcct accaagggag
 600
 aaactggctg cagcagagcg agtacttctg tccaacatgg acatcctgaa gccaatcctg
 660
 65 agaacactaa actctacatc tcccttcccg agcaaggagc tggccgaagc cacaaaaaca
 720
 ttgctgcata gtcttgggac tctggcccag gagctgttca gcatgagaag ctggagtgac
 780

atgcgacagg aggtgatgtt tctgaccaat gtgaacagct ccagctcctc cacccaaatc
840
taccaggctg tgtctcgtat tgtctgcggg catcccaggg gaggggggct gaagatcaag
900
5 tctctcaact ggtatgagga caacaactac aaagccctct ttggaggcaa tggcactgag
960
gaagatgctg aaaccttcta tgacaactct acaactcctt actgcaatga tttgatgaag
1020
aatttggagt ctagtcctct tccccgatt atctggaag ctctgaagcc gctgctcgtt
1080
10 gggaagatcc tgtatacacc tgacactcca gccacaaggc aggtcatggc tgaggtgaac
1140
aagaccttcc aggaactggc tgtgttccat gatctggaag gcatgtggga ggaactcagc
1200
15 cccaagatct ggaccttcat ggagaacagc caagaaatgg acctgttccg gatgctgttg
1260
gacagcaggg acaatgacca cttttgggaa cagcagttgg atggcttaga ttggacagcc
1320
caagacatcg tggcgTTTTT ggccaagcac ccagaggatg tccagtccag taatggttct
1380
20 gtgtacacct ggagagaagc tttcaacgag actaaccagg caatccggac catatctcgc
1440
ttcatggagt gtgtcaacct gaacaagcta gaaccatag caacagaagt ctggctcctc
1500
25 aacaagtcca tggagctgct ggagtacagt ggcgtgacct cagctcactg caacctctgc
1560
ctcctgagtt caagtattc tcgtgcctca gcctcccaag tagctgggat tacagctcct
1620
gccaccacgc ccggggctgg tattgtgttc actggaatta ctccaggcag cattgagctg
1680
30 ccccatcatg tcaagtacaa gatccgaatg gacattgaca atgtggagag gacaaataaa
1740
atcaaggatg ggtactggga ccttggtcct cgagctgacc cctttgagga catgcggtac
1800
35 gtctgggggg gcttcgccta cttgcaggat gtggtggagc aggcaatcat cagggtgctg
1860
acgggcaccg agaagaaaac tgggtgtctat atgcaacaga tgccctatcc ctgttacgtt
1920
gatgacatct ttctcggggt gatgagccgg tcaatgcccc tcttcatgac gctggcctgg
1980
40 atttactcag tggctgtgat catcaagggc atcgtgtatg agaaggaggc acggctgaaa
2040
gagaccatgc ggatcatggg cctggacaac agcatcctct ggtttagctg gttcattagt
2100
45 agcctcattc ctcttcttgt gagcgctggc ctgctagtgg tcatcctgaa gttaggaaac
2160
ctgctgccct acagtgatcc cagcgtgggt tttgtcttcc tgtccgtgtt tgcgtgtgtg
2220
acaatcctgc agtgcttctt gattagcaca ctcttctcca gagccaaact ggcagcagcc
2280
50 tgtgggggca tcatctactt cacgctgtac ctgccctacg tcctgtgtgt ggcattggcag
2340
gactacgtgg gcttcacact caagatcttc gctagcctgc tgtctcctgt ggcttttggg
2400
55 tttggctgtg agtactttgc cctttttgag gagcagggca ttggagtgca gtgggacaac
2460
ctgtttgaga gtccgtgga ggaagatggc ttcaatctca ccacttcggt ctccatgatg
2520
ctgtttgaca ccttctctta tggggtgatg acctggtaca ttgaggctgt ctttccaggc
2580
60 cagtacggaa ttcccaggcc ctggtatttt ccttgcacca agtcctactg gtttggcgag
2640
gaaagtgatg agaagagcca ccctggttcc aaccagaaga gaatatcaga aatctgcatg
2700
65 gaggaggaa ccaccactt gaagctgggc gtgtccattc agaacctggt aaaagtctac
2760
cgagatggga tgaaggtggc tgtcgtggc ctggcactga atttttatga gggccagatc
2820

acctccttcc tgggccacaa tggagcgggg aagacgacca ccatgtcaat cctgaccggg
 2880
 ttgttcccc cgacctcggg caccgcctac atcctgggaa aagacattcg ctctgagatg
 2940
 5 agcaccatcc ggcagaacct gggggctctgt ccccgagcata acgtgctgtt tgacatgctg
 3000
 actgtcgaag aacacatctg gttctatgcc cgcttgaaag ggctctctga gaagcacgtg
 3060
 10 aaggcggaga tggagcagat ggccctggat gttggtttgc catcaagcaa gctgaaaagc
 3120
 aaaacaagcc agctgtcagg tggaatgcag agaaagctat ctgtggcctt ggcctttgtc
 3180
 gggggatcta aggttgtcat tctggatgaa cccacagctg gtgtggaccc ttactcccg
 3240
 15 aggggaatat gggagctgct gctgaaatac cgacaaggcc gcaccattat tctctctaca
 3300
 caccacatgg atgaagcgga cgtcctgggg gacaggattg ccatcatctc ccatgggaag
 3360
 ctgtgctgtg tgggctcctc cctgtttctg aagaaccagc tgggaacagg ctactacctg
 3420
 20 accttgggtca agaaagatgt ggaatcctcc ctcagttcct gcagaaacag tagtagcact
 3480
 gtgtcatacc tgaaaaagga ggacagtgtt tctcagagca gttctgatgc tggcctgggc
 3540
 25 agcgaccatg agagtgcac gctgaccatc gatgtctctg ctatctccaa cctcatcagg
 3600
 aagcatgtgt ctgaagcccg gctgggtgaa gacatagggc atgagctgac ctatgtgctg
 3660
 30 ccatatgaag ctgctaagga gggagccttt gtggaactct ttcattgagat tgatgaccgg
 3720
 ctctcagacc tgggcatttc tagttatggc atctcagaga cgacctgga agaaatattc
 3780
 ctcaagggtg ccgaagagag tgggggtggat gctgagacct cagatggtac cttgccagca
 3840
 35 agacgaaaca ggcgggcctt cggggacaag cagagctgtc ttcgcccgtt cactgaagat
 3900
 gatgtgctg atccaaatga ttctgacata gaccagaaat ccagagagac agacttgctc
 3960
 40 agtgggatgg atggcaaagg gtcctaccag gtgaaaggct ggaaacttac acagcaacag
 4020
 tttgtggccc ttttgtggaa gagactgcta attgccagac ggagtccgaa aggatttttt
 4080
 gctcagattg tcttgccagc tgtgtttgtc tgcattgccc ttgtgttcag cctgatcgtg
 4140
 45 ccaccctttg gcaagtaccc cagcctggaa cttcagccct ggatgtacaa cgaacagtac
 4200
 acatttgtca gcaatgatgc tcctgaggac acgggaaccc tggaaactctt aaacgccctc
 4260
 50 accaaagacc ctggcttcgg gaccgctgt atggaaggaa acccaatccc agacacgccc
 4320
 tgccaggcag gggaggaaga gtggaccact gcccagttc ccagaccat catggacctc
 4380
 ttccagaatg ggaactggac aatgcagaac ccttcacctg catgccagtg tagcagcgac
 4440
 55 aaaatcaaga agatgtgcc tgtgtgtccc ccaggggcag gggggctgcc tcctccacaa
 4500
 agaaaacaaa acactgcaga tctccttcag gacctgacag gaagaaacat ttcggattat
 4560
 ctggtgaaga cgtatgtgca gatcatagcc aaaagcttaa agaacaagat ctgggtgaat
 4620
 60 gaggtttagt atggcggtt ttcctgggt gtcagtaata ctcaagcact tcctccgagt
 4680
 caagaagtta atgatgccac caaacaatg aagaaacacc taaagctggc caaggacagt
 4740
 65 tctgcagatc gatttctcaa cagctggga agatttatga caggactgga caccagaaat
 4800
 aatgtcaagg tgtggttcaa taacaagggc tggcatgcaa tcagctctt cctgaatgtc
 4860

atcaacaatg ccattctccg ggccaacctg caaaaggag agaaccctag ccattatgga
4920
attactgctt tcaatcatcc cctgaatctc accaagcagc agctctcaga ggtggctccg
4980
5 atgaccacat cagtggatgt ccttgtgtcc atctgtgtca tctttgcaat gtccttcgtc
5040
ccagccagct ttgtcgtatt cctgatccag gagcgggtca gcaaagcaaa acacctgcag
5100
10 ttcacatcagtg gagtgaagcc tgtcatctac tggctctcta attttgtctg ggatatgtgc
5160
aattacgttg tccctgccac actggtcatt atcatcttca tctgcttcca gcagaagtc
5220
tatgtgtcct ccaccaatct gcctgtgcta gcccttctac ttttgcgtga tgggtgggtca
5280
15 atcacacctc tcatgtaccc agcctccttt gtgttcaaga tccccagcac agcctatgtg
5340
gtgctcacca gcgtgaacct cttcattggc attaatggca gcgtggccac ctttgtgctg
5400
gagctgttca ccgacaataa gctgaataat atcaatgata tcctgaagtc cgtgttcttg
20 5460
atcttccac atttttgcct gggacgaggg ctcatcgaca tggtgaaaaa ccaggcaatg
5520
gctgatgcc tggaaagggt tggggagaat cgctttgtgt caccattatc ttgggacttg
5580
25 gtgggacgaa acctcttcgc catggccgtg gaagggttg tgttcttcct cactactgtt
5640
ctgatccagt acagattctt catcaggccc agacctgtaa atgcaaagct atctcctctg
5700
aatgatgaag atgaagatgt gaggcgggaa agacagagaa ttcttgatgg tggaggccag
30 5760
aatgacatct tagaaatcaa ggagttagc agatatata gaaggaagcg gaagcctgct
5820
gttgacagga tttgcgtggg cttcctcct ggtgagtgt tgggctcct gggagttaat
5880
35 ggggctggaa aatcatcaac tttcaagatg ttaacaggag ataccactgt taccagagga
5940
gatgctttcc ttaacagaaa tagtatctta tcaaacatcc atgaagtaca tcagaacatg
6000
ggctactgcc ctcatgttga tgccatcaca gagctgttga ctgggagaga acacgtggag
40 6060
ttctttgccc ttttgagagg agtcccagag aaagaagttg gcaaggttg tgagtgggcg
6120
attcggaaac tgggcctcgt gaagtatgga gaaaaatatg ctggtaacta tagtggaggc
6180
45 aacaaacgca agctctctac agccatggct ttgatcggcg ggcctcctgt ggtgtttctg
6240
gatgaacca ccacaggcat ggatcccaa gcccgcggt tcttgtggaa ttgtgcccta
6300
agtgttgtca aggaggggag atcagtagtg cttacatctc atagtatgga agaattgtga
50 6360
gctctttgca ctaggatggc aatcatggc aatggaaggt tcagggtcct tggcagtgtc
6420
cagcatctaa aaaatagggt tggagatggt tatacaatag ttgtacgaat agcagggtcc
6480
55 aacccggacc tgaagcctgt ccaggatttc tttggacttg catttcttg aagtgttcca
6540
aaagagaaac accggaacat gctacaatac cagcttccat cttcattatc ttctctggcc
6600
aggatattca gcatcctctc ccagagcaaa aagcgactcc acatagaaga ctactctgtt
60 6660
tctcagacaa cacttgacca agtatttgtg aactttgcc aggaccaaag tgatgatgac
6720
cacttaaaag acctctcatt acacaaaaac cagacagtag tggacgttgc agttctcaca
6780
65 tcttttctac aggatgagaa agtgaaagaa agctatgat gaagaatcct gttcatacgg
6840
ggtggctgaa agtaaagagg nactagactt tcctttgcac catgtgaagt gttgtggaga
6900

aaagagccag aagttgatgt gggaagaagt aaactggata ctgtactgat actattcaat
 6960
 gcaatgcaat tcaatgcaat gaaaacaaaa ttccattaca ggggcagtgc cttttagacc
 7020
 5 tatgtcttgt atggctctca agtgaaagac ttgaatttag ttttttacct atacctatgt
 7080
 gaaactctat tatggaaccc aatggacata tgggtttgaa ctccaccttt tttttttttt
 7140
 10 ttgttctctgt gtattctcat tggggttgca acaataattc atcaagtaat catggccagc
 7200
 gattattgat caaaatcaaa aggtaatgca catcctcatt cactaagcca tgccatgccc
 7260
 aggagactgg tttcccggtg acacatccat tgctggcaat gagtgtgcca gagttattag
 7320
 15 tgccaagttt ttcagaaagt ttgaagcacc atggtgtgtc atgtcactt ttgtgaaagc
 7380
 tgctctgctc agagtctatc aacattgaat atcagttgac agaattggtgc catgctgtgc
 7440
 20 taacatcctg ctttgattcc ctctgataag ctgttctggt ggcagtaaca tgcaacaaaa
 7500
 atgtgggtgt ctctaggcac gggaaacttg gttccattgt tatattgtcc tatgcttcga
 7560
 gccatgggtc tacagggtca tccttatgag actcttaaat atacttagat cctggtgaaga
 7620
 25 ggcaagaat caacagccaa actgctgggg ctgcaagctg ctgaagccag ggcattggat
 7680
 taaagagatt gtgcgttcaa acctaggga gctgtgccc atttgtcctg actgtctgct
 7740
 aacatggtac actgcattcc aagatgttta tctgacacaa gtgtattatt tctggctttt
 7800
 30 tgaattaatc tagaaaatga aaagatggag ttgtattttg aaaaaaatgt ttgtactttt
 7860
 taatgttatt tggaatttta agttctatca gtgacttctg aatccttaga atggcctctt
 7920
 35 tgtagaaccc tgtggtatag aggagtatgg ccaactgccc actattttta ttttcttatg
 7980
 taagtttgca tatcagtcac gactagtgc tagaaagcaa tgtgatggtc aggatctcat
 8040
 40 gacattatat ttgagtttct ttcagatcat ttaggatact cttaatctca cttcatcaat
 8100
 caaatatttt ttgagtgtat gctgtagctg aaagagtatg tacgtacgta taagactaga
 8160
 gagatattaa gtctcagtac acttctctgt ccatgttatt cagctcactg gtttacaat
 8220
 45 ataggttgtc ttgtggttgt aggagccac tgtaacaata ctgggcagcc tttttttttt
 8280
 tttttaattg caacaatgca aaagccaaga aagtataagg gtcacaagtc taaacaatga
 8340
 attcttcaac agggaaaaca gctagcttga aaacttgctg aaaaacacaa cttgtgttta
 8400
 50 tggcatttag taccttcaaa taattggctt tgcagatatt ggatacccca ttaaatctga
 8460
 cagtctcaaa ttttctatct cttcaatcac tagtcaagaa aaatataaaa acaacaaata
 8520
 55 cttccatag gagcattttt cagagttttc taaccagtc ttatttttct agtcagtaaa
 8580
 catttgtaaa aatactgttt cactaatact tactgttaac tgtcttgaga gaaaagaaaa
 8640
 60 atatgagaga actattgttt ggggaagttc aagtgtctt tcaatatcat tactaacttc
 8700
 ttccactttt tccaaaattt gaatattaac gctaaaggtg taagacttca gatttcaaat
 8760
 taatctttct atatttttta aatttacaga atattatata acccactgct gaaaaagaaa
 8820
 65 aaaatgattg ttttagaagt taaagtcaat attgatttta aatataagta atgaaggcat
 8880
 atttccaata actagtata tggcatcggt gcattttaca gtatcttcaa aaatacagaa
 8940

tttatagaat aatttctcct catttaatat ttttcaaaat caaagttatg gtttctcat
 9000
 ttactaaaa tcgtattcta attcttcatt atagtaaate tatgagcaac tccttacttc
 9060
 5 ggttcctctg atttcaaggc catattttta aaaatcaaaa ggcactgtga actattttga
 9120
 agaaaaacaca acattttaat acagattgaa aggacctctt ctgaagctag aaacaatcta
 9180
 10 tagttataca tcttcattaa tactgtgtta ctttttaaaa tagtaatttt ttacattttc
 9240
 ctgtgtaaac ctaattgtgg tagaaatttt taccaactct atactcaate aagcaaaatt
 9300
 tctgtatatt cctgtggaa tgtacctatg tgagtctcag aaattctcaa aatacgtgtt
 9360
 15 caaaaatttc tgcttttgca tctttgggac acctcagaaa acttattaac aactgtgaat
 9420
 atgagaaata cagaagaaaa taataagccc tctatacata aatgccagc acaattcatt
 9480
 gttaaaaaac aaccaaact cacactactg tatttcatta tctgtactga aagcaaatgc
 9540
 20 tttgtgacta ttaaatgttg cacatcattc attcaaaaaa aaaaaaaaaa aaa
 9593

25 <210> 95
 <211> 173
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

30 <400> 95
 ctgggacctt ggtcctcgag ctgacctctt tgaggacatg cggtagctct gggggggctt 60
 cgcctacttg caggatgtgg tggagcaggc aatcatcagg gtgctacggg caccgagaag
 120
 aaaactgggtg tctatatgca acagatgcc taccctgtt acgttgatga cat
 173

40 <210> 96
 <211> 9495
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

45 <400> 96
 caaacatgtc agctgttact ggaagtggcc tggcctctat ttatcttctt gatcctgac 60
 tctgttcggc tgagctaccc accctatgaa caacatgaat gccattttcc aaataaagcc
 120
 atgccctctg caggaacact tccttgggtt caggggatta tctgtaatgc caacaacccc
 180
 50 tgtttccggt acccgactcc tggggaggct cccggagttg ttggaaactt taacaaatcc
 240
 attgtggctc gctgttctc agatgctcgg aggtctcttt tatacagcca gaaagacacc
 300
 agcatgaagg acatgcgcaa agttctgaga acattacagc agatcaagaa atccagctca
 360
 55 aacttgaagc ttcaagattt cctgggtggac aatgaaacct tctctgggtt cctgtatcac
 420
 aacctctctc tcccaaagtc tactgtggac aagatgctga gggctgatgt cattctccac
 480
 aaggtatttt tgcaaggcta ccagttacat ttgacaagtc tgtgcaatgg atcaaaatca
 540
 60 gaagagatga ttcaacttgg tgaccaagaa gtttctgagc tttgtggcct accaaggagg
 600
 aaactggctg cagcagagcg agtacttcgt tccaacatgg acatcctgaa gccaatcctg
 660
 65 agaacactaa actctacatc tcccttcccg agcaaggagc tggccgaagc cacaaaaaca
 720
 ttgctgcata gtcttgggac tctggcccag gagctgttca gcatgagaag ctggagtgac
 780

atgcgacagg aggtgatgtt tctgaccaat gtgaacagct ccagctcctc cacccaaatc
 840
 taccaggctg tgtctcgtat tgtctgcggg catcccagg gaggggggct gaagatcaag
 900
 5 tctctcaact ggtatgagga caacaactac aaagccctct ttggaggcaa tggcactgag
 960
 gaagatgctg aaaccttcta tgacaactct acaactcctt actgcaatga tttgatgaag
 1020
 10 aatttggagt ctagtccctt tccccgatt atctggaaag ctctgaagcc gctgctcgtt
 1080
 gggagatcc tgtatacacc tgacactcca gccacaaggc aggtcatggc tgaggatgaac
 1140
 aagaccttc aggaactggc tgtgttccat gatctggaag gcatgtggga ggaactcagc
 1200
 15 cccaagatct ggaccttcat ggagaacagc caagaaatgg accttgtccg gatgctgttg
 1260
 gacagcagg acaatgacca cttttgggaa cagcagttgg atggcttaga ttggacagcc
 1320
 caagacatcg tggcgttttt ggccaagcac ccagaggatg tccagtccag taatggttct
 1380
 20 gtgtacacct ggagagaagc tttcaacgag actaaccagg caatccggac catatctcgc
 1440
 ttcatggagt gtgtcaacct gaacaagcta gaacccatag caacagaagt ctggtctatc
 1500
 25 aacaagtcca tggagctgct ggatgagagg aagttctggg ctggtattgt gttcactgga
 1560
 attactccag gcagcattga gctgccccat catgtcaagt acaagatccg aatggacatt
 1620
 gacaatgtgg agaggacaaa taaaatcaag gatgggtact gggacctgg tcctcgagct
 1680
 30 gacctcttg aggacatgcg gtacgtctgg gggggcttcg cctacttgca ggatgtggtg
 1740
 gagcaggcaa tcatcagggt gctcgggcac cgagaagaaa actggtgtct atatgcaaca
 1800
 35 gatgccctat ccctgttacg ttgatgacat ctttctgcgg gtgatgagcc ggtcaatgcc
 1860
 cctcttcatg acgtggcct ggatttactc agtggctgtg atcatcaagg gcatcgtgta
 1920
 tgagaaggag gcacggctga aagagaccat gcgatcatg ggcctggaca acagcatcct
 1980
 40 ctggtttagc tggttcatta gtagcctcat tcctcttctt gtgagcgtg gcctgctagt
 2040
 ggtcatcctg aagttaggaa acctgctgcc ctacagtgt cccagcgtgg tgtttgtctt
 2100
 45 cctgtccgtg tttgctgtgg tgacaactct gcagtgttc ctgattagca cactcttctc
 2160
 cagagccaac ctggcagcag cctgtgggg catcatctac ttcacgtgt acctgcccta
 2220
 50 cgtcctgtgt gtggcatggc aggactacgt gggcttcaca ctcaagatct tcgctagcct
 2280
 gctgtctcct gtggcttttg ggtttggctg tgagtacttt gccctttttg aggagcaggg
 2340
 cattggagtg cagtgggaca acctgtttga gagtccctgt gaggaagatg gcttcaatct
 2400
 55 caccacttcg gtctccatga tgctgtttga cacttctc tatggggtga tgacctgga
 2460
 cattgaggct gtctttccag gccagtacgg aattcccagg ccttggtatt ttccttgac
 2520
 caagtcctac tggtttggcg aggaagtga tgagaagagc cacctgggt ccaaccagaa
 2580
 60 gagaatatca gaaatctgca tggaggagga accacccac ttgaagctgg gcgtgtccat
 2640
 tcagaacctg gtaaaagtct accgagatgg gatgaaggtg gctgtcgatg gcctggcact
 2700
 65 gaatttttat gagggccaga tcacctcctt cctgggccac aatggagcgg ggaagacgac
 2760
 caccatgtca atcctgaccg ggtgttccc cccgacctcg ggcaccgct acatcctggg
 2820

aaaagacatt cgctctgaga tgagcaccat ccggcagaac ctgggggtct gtccccagca
 2880
 taacgtgctg tttgacatgc tgactgtcga agaacacatc tggttctatg cccgcttgaa
 2940
 5 agggctctct gagaagcacg tgaaggcggg gatggagcag atggccctgg atgttggttt
 3000
 gccatcaagc aagctgaaaa gcaaaacaag ccagctgtca ggtggaatgc agagaaagct
 3060
 10 atctgtggcc ttggcctttg tcgggggata taaggttgtc attctggatg aaccacagc
 3120
 tgggtgtggac cttactccc gcagggaat atgggagctg ctgctgaaat accgacaagg
 3180
 ccgcaccatt attctctcta cacaccacat ggatgaagcg gacgtcctgg gggacaggat
 3240
 15 tgccatcatc tcccatggga agctgtgctg tgtgggctcc tccctgttcc tgaagaacca
 3300
 gctgggaaca ggctactacc tgaccttggc caagaaagat gtggaatcct ccctcagttc
 3360
 20 ctgcagaaac agtagtagca ctgtgtcata cctgaaaaag gaggacagtg tttctcagag
 3420
 cagttctgat gctggcctgg gcagcgacca tgagagtac acgctgacca tcgatgtctc
 3480
 tgctatctcc aacctcatca ggaagcatgt gtctgaagcc cggctgggtg aagacatagg
 3540
 25 gcatgagctg acctatgtgc tgccatatga agctgctaag gagggagcct ttgtggaact
 3600
 ctttcatgag attgatgacc ggctctcaga cctgggcatt tctagttatg gcatctcaga
 3660
 30 gacgacctg gaagaaatat tctcaaggt ggccgaagag agtggggtg atgctgagac
 3720
 ctcataggt accttgccag caagacgaaa caggcgggccc ttcggggaca agcagagctg
 3780
 tcttcgcccg ttcactgaag atgatgctgc tgatccaaat gattctgaca tagaccaga
 3840
 35 atccagagag acagacttgc tcagtgggat ggatggcaaa gggccctacc aggtgaaagg
 3900
 ctggaaactt acacagcaac agtttgtggc cttttgtgg aagagactgc taattgccag
 3960
 40 acggagtcgg aaaggatttt ttgctcagat tgtcttgcca gctgtgtttg tctgcattgc
 4020
 ccttgtgttc agcctgatcg tgccaccctt tggcaagtac ccagcctgg aacttcagcc
 4080
 ctggatgtac aacgaacagt acacatttgt cagcaatgat gctcctgagg acacgggaac
 4140
 45 cctggaactc ttaaaccgcc tcaccaaaaga ccctggcttc gggaccgct gtatggaagg
 4200
 aaaccaatc ccagacagc cctgccaggc aggggaggaa gattggacca ctgcccagt
 4260
 tccccagacc atcatggacc tcttcagaa tgggaactgg acaatgcaga acccttcacc
 4320
 50 tgcatgccag tgtagcagcg acaaaatcaa gaagatgctg cctgtgtgtc cccaggggc
 4380
 aggggggctg cctcctccac aaagaaaaca aaacactgca gatatccttc aggacctgac
 4440
 55 aggaagaaac atttcggatt atctggtgaa gacgtatgtg cagatcatag ccaaaagctt
 4500
 aaagaacaag atctgggtga atgagtttag gtatggcggc tttccctgg gtgtcagtaa
 4560
 tactcaagca cttcctccga gtcaagaagt taatgatgcc accaaacaaa tgaagaaaca
 4620
 60 cctaaagctg gccaaggaca gttctgcaga tcgatttctc aacagcttgg gaagatttat
 4680
 gacaggactg gacaccagaa ataatgtcaa ggtgtggttc aataacaagg gctggcatgc
 4740
 65 aatcagctct ttcctgaatg tcatcaacaa tgccattctc cgggccaacc tgcaaaaggg
 4800
 agagaaccct agccattatg gaattactgc tttcaatcat cccctgaatc tcaccaagca
 4860

gcagctctca gaggtggctc cgatgaccac atcagtggtat gtccttgtgt ccatctgtgt
 4920
 catctttgca atgtccttcg tcccagccag ctttgtcgta ttcctgatcc aggagcgggt
 4980
 5 cagcaaagca aaacacctgc agttcatcag tggagtgaag cctgtcatct actggctctc
 5040
 taattttgtc tgggatatgt gcaattacgt tgtccctgcc aacttggtca ttatcatctt
 5100
 catctgcttc cagcagaagt cctatgtgtc ctccaccaat ctgcctgtgc tagcccttct
 10 5160
 acttttgctg tatgggtggt caatcacacc tctcatgtac ccagcctcct ttgtgttcaa
 5220
 gatccccagc acagcctatg tgggtgctac cagcgtgaac ctcttcattg gcattaatgg
 5280
 15 cagcgtggcc acctttgtgc tggagctggt caccgacaat aagctgaata atatcaatga
 5340
 tatcctgaag tccgtgttct tgatcttccc acatttttgc ctgggacgag ggctcatcga
 5400
 catggtgaaa aaccaggcaa tggctgatgc cctggaaaag tttggggaga atcgctttgt
 20 5460
 gtcaccatta tcttgggact tgggtgggacg aaacctcttc gccatggccg tggaggggt
 5520
 ggtgttcttc ctcatctactg ttctgatcca gtacagattc ttcacagggc ccagacctgt
 5580
 25 aaatgcaaag ctatctcttc tgaatgatga agatgaagat gtgaggcggg aaagacagag
 5640
 aattcttgat ggtggaggcc agaatgacat cttagaaatc aaggagtga cgaagatata
 5700
 tagaaggaa cgggaagcctg ctgttgacag gatttgcgtg ggcattcctc ctggtgagt
 30 5760
 ctttgggctc ctgggagtta atggggctgg aaaatcatca actttcaaga tgtaaacagg
 5820
 agataccact gttaccagag gagatgcttt ccttaacaga aatagtatct tatcaaact
 5880
 35 ccatgaagta catcagaaca tgggctactg cctcagttt gatgccatca cagagctggt
 5940
 gactgggaga gaacacgtgg agttctttgc ctttttgaga ggagtcccag agaaagaagt
 6000
 tggcaaggtt ggtgagtggg cgattcggaa actgggcctc gtgaagtatg gagaaaaata
 40 6060
 tgctggtaac tatagtggag gcaacaaacg caagctctct acagccatgg ctttgatcgg
 6120
 cgggcctcct gtggtgttct tggatgaacc caccacaggc atggatccca aagcccgcg
 6180
 45 gttcttgtgg aattgtgccc taagtgtgtt caaggagggg agatcagtag tgcttacatc
 6240
 tcatagtatg gaagaatgtg aagctctttg cactaggatg gcaatcatgg tcaatggaag
 6300
 gttcaggtgc cttggcagtg tccagcatct aaaaaatagg tttggagatg gttatacaat
 50 6360
 agttgtacga atagcagggt ccaacccgga cctgaagcct gtccaggatt tctttggact
 6420
 tgcatttctt ggaagtgttc caaaagagaa acaccggaac atgctacaat accagcttcc
 6480
 55 atcttcatta tcttctcttg ccaggatatt cagcatctc tcccagagca aaaagcgact
 6540
 ccacatagaa gactactctg tttctcagac aacacttgac caagtatttg tgaactttgc
 6600
 caaggaccaa agtgatgatg accacttaaa agacctctca ttacacaaaa accagacagt
 60 6660
 agtggacgtt gcagttctca catcttttct acaggatgag aaagtgaag aaagctatgt
 6720
 atgaagaatc ctgttcatac ggggtggctg aaagtaaaga gmnactagac tttcctttgc
 6780
 65 accatgtgaa gtgttgtgga gaaaagagcc agaagttgat gtgggaagaa gtaaaactgga
 6840
 tactgtactg atactattca atgcaatgca attcaatgca atgaaaacaa aattccatta
 6900

caggggcagt gcctttgtag cctatgtctt gtagggctct caagtgaag acttgaattt
 6960
 agtttttttac ctataacctat gtgaaactct attatggaac ccaatggaca tatgggtttg
 7020
 5 aactcacact tttttttttt ttttgttctt gtgtattctc attgggggtg caacaataat
 7080
 tcatcaagta atcatggcca gcgattattg atcaaatca aaaggtaatg cacatcctca
 7140
 10 ttcactaagc catgccatgc ccaggagact gggttcccg tgacacatcc attgctggca
 7200
 atgagtgtgc cagagttatt agtgccaagt ttttcagaaa gtttgaagca ccatgggtgtg
 7260
 tcatgctcac ttttgtgaaa gctgctctgc tcagagtcta tcaacattga atatcagttg
 7320
 15 acagaatggt gccatgcgtg gctaacatcc tgctttgatt ccctctgata agctgttctg
 7380
 gtggcagtaa catgcaacaa aaatgtgggt gtctctaggc acgggaaact tggttccatt
 7440
 gttatattgt cctatgcttc gagccatggg tctacagggt catccttatg agactcttaa
 7500
 20 atatacttag atcctggtaa gaggcaaaga atcaacagcc aaactgctgg ggctgcaagc
 7560
 tgctgaagcc agggcatggg attaaagaga ttgtgcgttc aaacctaggg aagcctgtgc
 7620
 25 ccatttgtcc tgactgtctg ctaacatggt acactgcac tcaagatgtt tatctgacac
 7680
 aagtgtatta tttctggctt tttgaattaa tctagaaaat gaaaagatgg agttgtattt
 7740
 tgacaaaaat gtttgtactt tttaatgtta tttggaattt taagttctat cagtgacttc
 7800
 30 tgaatcctta gaatggcctc tttgtagaac cctgtggtat agaggagtat ggccactgcc
 7860
 ccaactattt tattttctta tgtaagttt catatcagtc atgactagt cctagaaagc
 7920
 35 aatgtgatgg tcaggatctc atgacattat atttgagttt ctttcagatc atttaggata
 7980
 ctcttaatct cacttcatca atcaaatatt ttttgagtgt atgctgtagc tgaaagagta
 8040
 tgtacgtacg tataagacta gagagatatt aagtctcagt acacttcctg tgccatgtta
 8100
 40 ttcagctcac tgggtttaca atataggttg tcttgtggtt gtaggagccc actgtaacaa
 8160
 tactgggcag cctttttttt tttttttaat tgcaacaatg caaaagccaa gaaagtataa
 8220
 45 gggtcacaag tctaacaat gaattcttca acagggaaaa cagctagctt gaaaacttgc
 8280
 tgaaaaacac aacttgtgtt tatggcattt agtaccttca aataattggc tttgcagata
 8340
 ttggataccc cattaaatct gacagtctca aatttttcat ctcttcaatc actagtcaag
 8400
 50 aaaaatataa aaacaacaaa tacttccata tggagcattt ttcagagttt tctaaccag
 8460
 tcttattttt ctagtacgta aacatttcta aaaatactgt ttcactaata cttactgtta
 8520
 55 actgtcttga gagaaaagaa aaatatgaga gaactattgt ttggggaagt tcaagtgatc
 8580
 tttcaatatc attactaact tcttccactt ttccaaaat ttgaatatta acgctaaagg
 8640
 tgtaagactt cagatttcaa attaatcttt ctatatTTTT taaatttaca gaatattata
 8700
 60 taaccactg ctgaaaaaga aaaaaatgat tgttttagaa gttaaagtca atattgattt
 8760
 taaatataag taatgaaggc atatttccaa taactagtga tatggcatcg ttgcatttta
 8820
 65 cagtatcttc aaaaatacag aatttataga ataatttctc ctcaattaat atttttcaaa
 8880
 atcaaaagta tggtttcttc attttactaa aatcgtattc taattcttca ttatagtaaa
 8940

tctatgagca actccttact tcggttcctc tgatttcaag gccatatttt aaaaaatcaa
 9000
 aaggcactgt gaactatttt gaagaaaaca caacatttta atacagattg aaaggacctc
 9060
 5 tttctgaagct agaaacaatc tatagttata catcttcatt aatactgtgt taccttttaa
 9120
 aatagtaatt ttttacattt tcctgtgtaa acctaattgt ggtagaaatt tttaccaact
 9180
 10 ctatactcaa tcaagcaaaa tttctgtata ttccctgtgg aatgtaccta tgtgagtttc
 9240
 agaaattctc aaaatacgtg ttcaaaaatt tctgcttttg catctttggg acacctcaga
 9300
 aaacttatta acaactgtga atatgagaaa tacagaagaa aataataagc cctctatata
 9360
 15 taaatgccca gcacaattca ttgttaaaaa acaaccaaac ctacactac tgtatttcat
 9420
 tatctgtact gaaagcaaat gctttgtgac tattaaatgt tgcacatcat tcattcaaaa
 9480
 aaaaaaaaaa aaaaa
 20 9495

<210> 97
 <211> 41
 25 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 97
 30 tgaaggctgt tcttctatca gtgtgtcaac ctgaacaagc t 41

<210> 98
 <211> 41
 <212> ADN
 35 <213> Homo sapiens

<400> 98
 tgaaggctgt tcttctatca atgtgtcaac ctgaacaagc t 41

40 <210> 99
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

45 <400> 99
 agttacctgc aagccactgt ttttaaccag tttatactgt g 41

50 <210> 100
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

55 <400> 100
 agttacctgc aagccactgt atttaaccag tttatactgt g 41

60 <210> 101
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

65 <400> 101
 caggctcaga ggccttgcc catcacctg gctcacgtgt g 41

<210> 102

<211> 41
<212> ADN
<213> Homo sapiens

5 <400> 102
caggctcaga ggccttgcc tatcaccctg gctcacgtgt g 41

10 <210> 103
<211> 41
<212> ADN
<213> Homo sapiens

15 <400> 103
atgggcctgg acaacagcat cctctggttt agctggttca t 41

20 <210> 104
<211> 41
<212> ADN
<213> Homo sapiens

25 <400> 104
atgggcctgg acaacagcat actctggttt agctggttca t 41

30 <210> 105
<211> 41
<212> ADN
<213> Homo sapiens

35 <400> 105
aaggaggagg aagaagaaaa aaaatccaag cctctggtag a 41

40 <210> 106
<211> 41
<212> ADN
<213> Homo sapiens

45 <400> 106
aaggaggagg aagaagaaaa gaaatccaag cctctggtag a 41

50 <210> 107
<211> 41
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <400> 107
tcttccttt gcagagacac gcctgccag gcaggggagg a 41

60 <210> 108
<211> 41
<212> ADN
<213> Homo sapiens

65 <400> 108
tcttccttt gcagagacac accctgccag gcaggggagg a 41

<210> 109
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 109

	ccttgctcc tagttagga ttt	23
5	<210> 110 <211> 24 <212> ADN <213> Homo sapiens	
10	<400> 110 aatataatag gtgctctgga cctc	24
15	<210> 111 <211> 25 <212> ADN <213> Homo sapiens	
20	<400> 111 atacaaaaat agaaaaaggg gcttg	25
25	<210> 112 <211> 25 <212> ADN <213> Homo sapiens	
30	<400> 112 atggatgaga aggaaagagg ttac	25
35	<210> 113 <211> 25 <212> ADN <213> Homo sapiens	
40	<400> 113 cattggatca tacgtacatt tcaga	25
45	<210> 114 <211> 25 <212> ADN <213> Homo sapiens	
50	<400> 114 tcactttccc caactataaa tggat	25
55	<210> 115 <211> 25 <212> ADN <213> Homo sapiens	
60	<400> 115 gtagatcata caagtgagtg cttgg	25
65	<210> 116 <211> 25 <212> ADN <213> Homo sapiens	
	<400> 116 ctgttctcaa cttgctgctt ttatt	25
	<210> 117 <211> 23	

<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 117
5 gcaaattcaa atttctccag gta 23

<210> 118
<211> 23
10 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 118
15 gcacaaagaa aggacatcag cta 23

<210> 119
<211> 23
20 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 119
cagtgcttac ccctgcta atc 23

25

<210> 120
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 120
gagatggaga aatcattcac agc 23

35 <210> 121
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 121
acatgtggaa tgacctaaac acc 23

45 <210> 122
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 122
50 cttaggacat ttggccttgc tat 23

<210> 123
<211> 24
55 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 123
60 catttctgtt ttaagagcct gtca 24

<210> 124
<211> 23
65 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 124
AATGTGGCAT GCAGTTGATA AAT_ 24

5 <210> 125
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 125
gtttgtggtt gttacggaat gat 23

15 <210> 126
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

20 <400> 126
CCTCCCAACA TGATATCTCA CTC_ 24

25 <210> 127
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

30 <400> 127
gtctgggacc tgtagtcagg ttt 23

35 <210> 128
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

40 <400> 128
ccaatagaca gaatcaggcc ata 23

45 <210> 129
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

50 <400> 129
tgccaacatt tattagagga agc 23

55 <210> 130
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

60 <400> 130
atccgtttaa cctgccaact act 23

65 <210> 131
<211> 23
<212> ADN
<213> Homo sapiens

70 <400> 131
tctcaggagc cgtttattta atg 23

75 <210> 132
<211> 23
<212> ADN


```

    <213> Homo sapiens

    <400> 132
5  gcccaacttta ccatgagttg aaa                23

    <210> 133
    <211> 23
    <212> ADN
10 <213> Homo sapiens

    <400> 133
    tctgatcata gtgttttgcc ttg                23

15
    <210> 134
    <211> 23
    <212> ADN
    <213> Homo sapiens
20
    <400> 134
    TGTTCCTTA CAATGAGATT CAC_                24

25
    <210> 135
    <211> 22
    <212> ADN
    <213> Homo sapiens

30
    <400> 135
    ggggtgaacag atgtttttcc tt                22

    <210> 136
35 <211> 23
    <212> ADN
    <213> Homo sapiens

    <400> 136
40 tagctggaac atttcctgat gat                23

    <210> 137
    <211> 23
45 <212> ADN
    <213> Homo sapiens

    <400> 137
50 ccctttcttg tctgataatg gtg                23

    <210> 138
    <211> 23
    <212> ADN
55 <213> Homo sapiens

    <400> 138
    CACAATTAAA CACTGTCCTC TGG_                24

60
    <210> 139
    <211> 2201
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens
65
    <400> 139
    Met Pro Ser Ala Gly Thr Leu Pro Trp Val Gln Gly Ile Ile Cys Asn
      1           5           10           15

```

Ala Asn Asn Pro Cys Phe Arg Tyr Pro Thr Pro Gly Glu Ala Pro Gly
 20 25 30
 5 Val Val Gly Asn Phe Asn Lys Ser Ile Val Ala Arg Leu Phe Ser Asp
 35 40 45
 Ala Arg Arg Leu Leu Leu Tyr Ser Gln Lys Asp Thr Ser Met Lys Asp
 50 55 60
 10 Met Arg Lys Val Leu Arg Thr Leu Gln Gln Ile Lys Lys Ser Ser Ser
 65 70 75 80
 Asn Leu Lys Leu Gln Asp Phe Leu Val Asp Asn Glu Thr Phe Ser Gly
 85 90 95
 Phe Leu Tyr His Asn Leu Ser Leu Pro Lys Ser Thr Val Asp Lys Met
 100 105 110
 20 Leu Arg Ala Asp Val Ile Leu His Lys Val Phe Leu Gln Gly Tyr Gln
 115 120 125
 Leu His Leu Thr Ser Leu Cys Asn Gly Ser Lys Ser Glu Glu Met Ile
 130 135 140
 25 Gln Leu Gly Asp Gln Glu Val Ser Glu Leu Cys Gly Leu Pro Arg Glu
 145 150 155 160
 Lys Leu Ala Ala Ala Glu Arg Val Leu Arg Ser Asn Met Asp Ile Leu
 165 170 175
 30 Lys Pro Ile Leu Arg Thr Leu Asn Ser Thr Ser Pro Phe Pro Ser Lys
 180 185 190
 35 Glu Leu Ala Glu Ala Thr Lys Thr Leu Leu His Ser Leu Gly Thr Leu
 195 200 205
 Ala Gln Glu Leu Phe Ser Met Arg Ser Trp Ser Asp Met Arg Gln Glu
 210 215 220
 40 Val Met Phe Leu Thr Asn Val Asn Ser Ser Ser Ser Ser Thr Gln Ile
 225 230 235 240
 Tyr Gln Ala Val Ser Arg Ile Val Cys Gly His Pro Glu Gly Gly Gly
 245 250 255
 45 Leu Lys Ile Lys Ser Leu Asn Trp Tyr Glu Asp Asn Asn Tyr Lys Ala
 260 265 270
 50 Leu Phe Gly Gly Asn Gly Thr Glu Glu Asp Ala Glu Thr Phe Tyr Asp
 275 280 285
 Asn Ser Thr Thr Pro Tyr Cys Asn Asp Leu Met Lys Asn Leu Glu Ser
 290 295 300
 55 Ser Pro Leu Ser Arg Ile Ile Trp Lys Ala Leu Lys Pro Leu Leu Val
 305 310 315 320
 Gly Lys Ile Leu Tyr Thr Pro Asp Thr Pro Ala Thr Arg Gln Val Met
 325 330 335
 60 Ala Glu Val Asn Lys Thr Phe Gln Glu Leu Ala Val Phe His Asp Leu
 340 345 350
 65 Glu Gly Met Trp Glu Glu Leu Ser Pro Lys Ile Trp Thr Phe Met Glu
 355 360 365
 Asn Ser Gln Glu Met Asp Leu Val Arg Met Leu Leu Asp Ser Arg Asp

	370	375	380	
	Asn Asp His Phe Trp	Glu Gln Gln Leu Asp	Gly Leu Asp Trp Thr Ala	
	385	390	395	400
5	Gln Asp Ile Val Ala	Phe Leu Ala Lys His	Pro Glu Asp Val Gln Ser	
		405	410	415
10	Ser Asn Gly Ser Val Tyr Thr Trp	Arg Glu Ala Phe Asn Glu Thr Asn		
		420	425	430
	Gln Ala Ile Arg Thr Ile Ser	Arg Phe Met Glu Cys Val Asn Leu Asn		
		435	440	445
15	Lys Leu Glu Pro Ile Ala Thr Glu Val Trp	Leu Ile Asn Lys Ser Met		
		450	455	460
	Glu Leu Leu Asp Glu Arg Lys Phe Trp Ala	Gly Ile Val Phe Thr Gly		
		465	470	475
20	Ile Thr Pro Gly Ser Ile Glu Leu Pro His	His Val Lys Tyr Lys Ile		
		485	490	495
25	Arg Met Asp Ile Asp Asn Val Glu Arg Thr	Asn Lys Ile Lys Asp Gly		
		500	505	510
	Tyr Trp Asp Pro Gly Pro Arg Ala Asp	Pro Phe Glu Asp Met Arg Tyr		
		515	520	525
30	Val Trp Gly Gly Phe Ala Tyr Leu Gln Asp	Val Val Glu Gln Ala Ile		
		530	535	540
	Ile Arg Val Leu Thr Gly Thr Glu Lys Lys	Thr Gly Val Tyr Met Gln		
		545	550	555
35	Gln Met Pro Tyr Pro Cys Tyr Val Asp	Asp Ile Phe Leu Arg Val Met		
		565	570	575
40	Ser Arg Ser Met Pro Leu Phe Met Thr	Leu Ala Trp Ile Tyr Ser Val		
		580	585	590
	Ala Val Ile Ile Lys Gly Ile Val Tyr	Glu Lys Glu Ala Arg Leu Lys		
		595	600	605
45	Glu Thr Met Arg Ile Met Gly Leu Asp	Asn Ser Ile Leu Trp Phe Ser		
		610	615	620
	Trp Phe Ile Ser Ser Leu Ile Pro Leu	Leu Val Ser Ala Gly Leu Leu		
		625	630	635
50	Val Val Ile Leu Lys Leu Gly Asn Leu	Leu Pro Tyr Ser Asp Pro Ser		
		645	650	655
55	Val Val Phe Val Phe Leu Ser Val Phe	Ala Val Val Thr Ile Leu Gln		
		660	665	670
	Cys Phe Leu Ile Ser Thr Leu Phe Ser	Arg Ala Asn Leu Ala Ala Ala		
		675	680	685
60	Cys Gly Gly Ile Ile Tyr Phe Thr	Leu Tyr Leu Pro Tyr Val Leu Cys		
		690	695	700
	Val Ala Trp Gln Asp Tyr Val Gly Phe	Thr Leu Lys Ile Phe Ala Ser		
		705	710	715
65	Leu Leu Ser Pro Val Ala Phe Gly Phe	Gly Cys Glu Tyr Phe Ala Leu		
		725	730	735

Phe Glu Glu Gln Gly Ile Gly Val Gln Trp Asp Asn Leu Phe Glu Ser
 740 745 750
 5 Pro Val Glu Glu Asp Gly Phe Asn Leu Thr Thr Ser Val Ser Met Met
 755 760 765
 Leu Phe Asp Thr Phe Leu Tyr Gly Val Met Thr Trp Tyr Ile Glu Ala
 770 775 780
 10 Val Phe Pro Gly Gln Tyr Gly Ile Pro Arg Pro Trp Tyr Phe Pro Cys
 785 790 795 800
 Thr Lys Ser Tyr Trp Phe Gly Glu Glu Ser Asp Glu Lys Ser His Pro
 805 810 815
 15 Gly Ser Asn Gln Lys Arg Ile Ser Glu Ile Cys Met Glu Glu Glu Pro
 820 825 830
 Thr His Leu Lys Leu Gly Val Ser Ile Gln Asn Leu Val Lys Val Tyr
 835 840 845
 Arg Asp Gly Met Lys Val Ala Val Asp Gly Leu Ala Leu Asn Phe Tyr
 850 855 860
 25 Glu Gly Gln Ile Thr Ser Phe Leu Gly His Asn Gly Ala Gly Lys Thr
 865 870 875 880
 Thr Thr Met Ser Ile Leu Thr Gly Leu Phe Pro Pro Thr Ser Gly Thr
 885 890 895
 30 Ala Tyr Ile Leu Gly Lys Asp Ile Arg Ser Glu Met Ser Thr Ile Arg
 900 905 910
 Gln Asn Leu Gly Val Cys Pro Gln His Asn Val Leu Phe Asp Met Leu
 915 920 925
 Thr Val Glu Glu His Ile Trp Phe Tyr Ala Arg Leu Lys Gly Leu Ser
 930 935 940
 40 Glu Lys His Val Lys Ala Glu Met Glu Gln Met Ala Leu Asp Val Gly
 945 950 955 960
 Leu Pro Ser Ser Lys Leu Lys Ser Lys Thr Ser Gln Leu Ser Gly Gly
 965 970 975
 45 Met Gln Arg Lys Leu Ser Val Ala Leu Ala Phe Val Gly Gly Ser Lys
 980 985 990
 Val Val Ile Leu Asp Glu Pro Thr Ala Gly Val Asp Pro Tyr Ser Arg
 995 1000 1005
 50 Arg Gly Ile Trp Glu Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Gln Gly Arg Thr Ile
 1010 1015 1020
 Ile Leu Ser Thr His His Met Asp Glu Ala Asp Val Leu Gly Asp Arg
 1025 1030 1035 1040
 Ile Ala Ile Ile Ser His Gly Lys Leu Cys Cys Val Gly Ser Ser Leu
 1045 1050 1055
 60 Phe Leu Lys Asn Gln Leu Gly Thr Gly Tyr Tyr Leu Thr Leu Val Lys
 1060 1065 1070
 Lys Asp Val Glu Ser Ser Leu Ser Ser Cys Arg Asn Ser Ser Ser Thr
 1075 1080 1085
 65 Val Ser Tyr Leu Lys Lys Glu Asp Ser Val Ser Gln Ser Ser Ser Asp
 1090 1095 1100

Ala Gly Leu Gly Ser Asp His Glu Ser Asp Thr Leu Thr Ile Asp Val
 1105 1110 1115 1120
 5 Ser Ala Ile Ser Asn Leu Ile Arg Lys His Val Ser Glu Ala Arg Leu
 1125 1130 1135
 Val Glu Asp Ile Gly His Glu Leu Thr Tyr Val Leu Pro Tyr Glu Ala
 1140 1145 1150
 10 Ala Lys Glu Gly Ala Phe Val Glu Leu Phe His Glu Ile Asp Asp Arg
 1155 1160 1165
 Leu Ser Asp Leu Gly Ile Ser Ser Tyr Gly Ile Ser Glu Thr Thr Leu
 1170 1175 1180
 15 Glu Glu Ile Phe Leu Lys Val Ala Glu Glu Ser Gly Val Asp Ala Glu
 1185 1190 1195 1200
 20 Thr Ser Asp Gly Thr Leu Pro Ala Arg Arg Asn Arg Arg Ala Phe Gly
 1205 1210 1215
 Asp Lys Gln Ser Cys Leu Arg Pro Phe Thr Glu Asp Asp Ala Ala Asp
 1220 1225 1230
 25 Pro Asn Asp Ser Asp Ile Asp Pro Glu Ser Arg Glu Thr Asp Leu Leu
 1235 1240 1245
 Ser Gly Met Asp Gly Lys Gly Ser Tyr Gln Val Lys Gly Trp Lys Leu
 1250 1255 1260
 30 Thr Gln Gln Gln Phe Val Ala Leu Leu Trp Lys Arg Leu Leu Ile Ala
 1265 1270 1275 1280
 35 Arg Arg Ser Arg Lys Gly Phe Phe Ala Gln Ile Val Leu Pro Ala Val
 1285 1290 1295
 Phe Val Cys Ile Ala Leu Val Phe Ser Leu Ile Val Pro Pro Phe Gly
 1300 1305 1310
 40 Lys Tyr Pro Ser Leu Glu Leu Gln Pro Trp Met Tyr Asn Glu Gln Tyr
 1315 1320 1325
 Thr Phe Val Ser Asn Asp Ala Pro Glu Asp Thr Gly Thr Leu Glu Leu
 1330 1335 1340
 Leu Asn Ala Leu Thr Lys Asp Pro Gly Phe Gly Thr Arg Cys Met Glu
 1345 1350 1355 1360
 50 Gly Asn Pro Ile Pro Asp Thr Pro Cys Gln Ala Gly Glu Glu Glu Trp
 1365 1370 1375
 Thr Thr Ala Pro Val Pro Gln Thr Ile Met Asp Leu Phe Gln Asn Gly
 1380 1385 1390
 55 Asn Trp Thr Met Gln Asn Pro Ser Pro Ala Cys Gln Cys Ser Ser Asp
 1395 1400 1405
 Lys Ile Lys Lys Met Leu Pro Val Cys Pro Pro Gly Ala Gly Gly Leu
 1410 1415 1420
 Pro Pro Pro Gln Arg Lys Gln Asn Thr Ala Asp Ile Leu Gln Asp Leu
 1425 1430 1435 1440
 65 Thr Gly Arg Asn Ile Ser Asp Tyr Leu Val Lys Thr Tyr Val Gln Ile
 1445 1450 1455
 Ile Ala Lys Ser Leu Lys Asn Lys Ile Trp Val Asn Glu Phe Arg Tyr

	1460	1465	1470
	Gly Gly Phe Ser Leu Gly Val Ser Asn Thr Gln Ala Leu Pro Pro Ser		
	1475	1480	1485
5	Gln Glu Val Asn Asp Ala Thr Lys Gln Met Lys Lys His Leu Lys Leu		
	1490	1495	1500
	Ala Lys Asp Ser Ser Ala Asp Arg Phe Leu Asn Ser Leu Gly Arg Phe		
10	1505	1510	1515 1520
	Met Thr Gly Leu Asp Thr Arg Asn Asn Val Lys Val Trp Phe Asn Asn		
	1525	1530	1535
15	Lys Gly Trp His Ala Ile Ser Ser Phe Leu Asn Val Ile Asn Asn Ala		
	1540	1545	1550
	Ile Leu Arg Ala Asn Leu Gln Lys Gly Glu Asn Pro Ser His Tyr Gly		
20	1555	1560	1565
	Ile Thr Ala Phe Asn His Pro Leu Asn Leu Thr Lys Gln Gln Leu Ser		
	1570	1575	1580
	Glu Val Ala Pro Met Thr Thr Ser Val Asp Val Leu Val Ser Ile Cys		
25	1585	1590	1595 1600
	Val Ile Phe Ala Met Ser Phe Val Pro Ala Ser Phe Val Val Phe Leu		
	1605	1610	1615
30	Ile Gln Glu Arg Val Ser Lys Ala Lys His Leu Gln Phe Ile Ser Gly		
	1620	1625	1630
	Val Lys Pro Val Ile Tyr Trp Leu Ser Asn Phe Val Trp Asp Met Cys		
35	1635	1640	1645
	Asn Tyr Val Val Pro Ala Thr Leu Val Ile Ile Ile Phe Ile Cys Phe		
	1650	1655	1660
	Gln Gln Lys Ser Tyr Val Ser Ser Thr Asn Leu Pro Val Leu Ala Leu		
40	1665	1670	1675 1680
	Leu Leu Leu Leu Tyr Gly Trp Ser Ile Thr Pro Leu Met Tyr Pro Ala		
	1685	1690	1695
45	Ser Phe Val Phe Lys Ile Pro Ser Thr Ala Tyr Val Val Leu Thr Ser		
	1700	1705	1710
	Val Asn Leu Phe Ile Gly Ile Asn Gly Ser Val Ala Thr Phe Val Leu		
50	1715	1720	1725
	Glu Leu Phe Thr Asp Asn Lys Leu Asn Asn Ile Asn Asp Ile Leu Lys		
	1730	1735	1740
	Ser Val Phe Leu Ile Phe Pro His Phe Cys Leu Gly Arg Gly Leu Ile		
55	1745	1750	1755 1760
	Asp Met Val Lys Asn Gln Ala Met Ala Asp Ala Leu Glu Arg Phe Gly		
	1765	1770	1775
60	Glu Asn Arg Phe Val Ser Pro Leu Ser Trp Asp Leu Val Gly Arg Asn		
	1780	1785	1790
	Leu Phe Ala Met Ala Val Glu Gly Val Val Phe Phe Leu Ile Thr Val		
65	1795	1800	1805
	Leu Ile Gln Tyr Arg Phe Phe Ile Arg Pro Arg Pro Val Asn Ala Lys		
	1810	1815	1820

Leu Ser Pro Leu Asn Asp Glu Asp Glu Asp Val Arg Arg Glu Arg Gln
 1825 1830 1835 1840
 Arg Ile Leu Asp Gly Gly Gly Gln Asn Asp Ile Leu Glu Ile Lys Glu
 5 1845 1850 1855
 Leu Thr Lys Ile Tyr Arg Arg Lys Arg Lys Pro Ala Val Asp Arg Ile
 1860 1865 1870
 10 Cys Val Gly Ile Pro Pro Gly Glu Cys Phe Gly Leu Leu Gly Val Asn
 1875 1880 1885
 Gly Ala Gly Lys Ser Ser Thr Phe Lys Met Leu Thr Gly Asp Thr Thr
 1890 1895 1900
 15 Val Thr Arg Gly Asp Ala Phe Leu Asn Arg Asn Ser Ile Leu Ser Asn
 1905 1910 1915 1920
 Ile His Glu Val His Gln Asn Met Gly Tyr Cys Pro Gln Phe Asp Ala
 20 1925 1930 1935
 Ile Thr Glu Leu Leu Thr Gly Arg Glu His Val Glu Phe Phe Ala Leu
 1940 1945 1950
 25 Leu Arg Gly Val Pro Glu Lys Glu Val Gly Lys Val Gly Glu Trp Ala
 1955 1960 1965
 Ile Arg Lys Leu Gly Leu Val Lys Tyr Gly Glu Lys Tyr Ala Gly Asn
 1970 1975 1980
 30 Tyr Ser Gly Gly Asn Lys Arg Lys Leu Ser Thr Ala Met Ala Leu Ile
 1985 1990 1995 2000
 Gly Gly Pro Pro Val Val Phe Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Met Asp
 35 2005 2010 2015
 Pro Lys Ala Arg Arg Phe Leu Trp Asn Cys Ala Leu Ser Val Val Lys
 2020 2025 2030
 40 Glu Gly Arg Ser Val Val Leu Thr Ser His Ser Met Glu Glu Cys Glu
 2035 2040 2045
 Ala Leu Cys Thr Arg Met Ala Ile Met Val Asn Gly Arg Phe Arg Cys
 2050 2055 2060
 45 Leu Gly Ser Val Gln His Leu Lys Asn Arg Phe Gly Asp Gly Tyr Thr
 2065 2070 2075 2080
 Ile Val Val Arg Ile Ala Gly Ser Asn Pro Asp Leu Lys Pro Val Gln
 50 2085 2090 2095
 Asp Phe Phe Gly Leu Ala Phe Pro Gly Ser Val Pro Lys Glu Lys His
 2100 2105 2110
 55 Arg Asn Met Leu Gln Tyr Gln Leu Pro Ser Ser Leu Ser Ser Leu Ala
 2115 2120 2125
 Arg Ile Phe Ser Ile Leu Ser Gln Ser Lys Lys Arg Leu His Ile Glu
 2130 2135 2140
 60 Asp Tyr Ser Val Ser Gln Thr Thr Leu Asp Gln Val Phe Val Asn Phe
 2145 2150 2155 2160
 Ala Lys Asp Gln Ser Asp Asp Asp His Leu Lys Asp Leu Ser Leu His
 65 2165 2170 2175
 Lys Asn Gln Thr Val Val Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Phe Leu Gln
 2180 2185 2190

Asp Glu Lys Val Lys Glu Ser Tyr Val
 2195 2200

5
 <210> 140
 <211> 2233
 <212> PRT
 10 <213> Homo sapiens

<400> 140
 Met Pro Ser Ala Gly Thr Leu Pro Trp Val Gln Gly Ile Ile Cys Asn
 1 5 10 15

15 Ala Asn Asn Pro Cys Phe Arg Tyr Pro Thr Pro Gly Glu Ala Pro Gly
 20 25 30

Val Val Gly Asn Phe Asn Lys Ser Ile Val Ala Arg Leu Phe Ser Asp
 20 35 40 45

Ala Arg Arg Leu Leu Leu Tyr Ser Gln Lys Asp Thr Ser Met Lys Asp
 50 55 60

25 Met Arg Lys Val Leu Arg Thr Leu Gln Gln Ile Lys Lys Ser Ser Ser
 65 70 75 80

Asn Leu Lys Leu Gln Asp Phe Leu Val Asp Asn Glu Thr Phe Ser Gly
 85 90 95

30 Phe Leu Tyr His Asn Leu Ser Leu Pro Lys Ser Thr Val Asp Lys Met
 100 105 110

Leu Arg Ala Asp Val Ile Leu His Lys Val Phe Leu Gln Gly Tyr Gln
 35 115 120 125

Leu His Leu Thr Ser Leu Cys Asn Gly Ser Lys Ser Glu Glu Met Ile
 130 135 140

40 Gln Leu Gly Asp Gln Glu Val Ser Glu Leu Cys Gly Leu Pro Arg Glu
 145 150 155 160

Lys Leu Ala Ala Ala Glu Arg Val Leu Arg Ser Asn Met Asp Ile Leu
 165 170 175

45 Lys Pro Ile Leu Arg Thr Leu Asn Ser Thr Ser Pro Phe Pro Ser Lys
 180 185 190

Glu Leu Ala Glu Ala Thr Lys Thr Leu Leu His Ser Leu Gly Thr Leu
 50 195 200 205

Ala Gln Glu Leu Phe Ser Met Arg Ser Trp Ser Asp Met Arg Gln Glu
 210 215 220

55 Val Met Phe Leu Thr Asn Val Asn Ser Ser Ser Ser Ser Thr Gln Ile
 225 230 235 240

Tyr Gln Ala Val Ser Arg Ile Val Cys Gly His Pro Glu Gly Gly Gly
 245 250 255

60 Leu Lys Ile Lys Ser Leu Asn Trp Tyr Glu Asp Asn Asn Tyr Lys Ala
 260 265 270

Leu Phe Gly Gly Asn Gly Thr Glu Glu Asp Ala Glu Thr Phe Tyr Asp
 65 275 280 285

Asn Ser Thr Thr Pro Tyr Cys Asn Asp Leu Met Lys Asn Leu Glu Ser
 290 295 300

Ser Pro Leu Ser Arg Ile Ile Trp Lys Ala Leu Lys Pro Leu Leu Val
 305 310 315 320
 5 Gly Lys Ile Leu Tyr Thr Pro Asp Thr Pro Ala Thr Arg Gln Val Met
 325 330 335
 Ala Glu Val Asn Lys Thr Phe Gln Glu Leu Ala Val Phe His Asp Leu
 340 345 350
 10 Glu Gly Met Trp Glu Glu Leu Ser Pro Lys Ile Trp Thr Phe Met Glu
 355 360 365
 Asn Ser Gln Glu Met Asp Leu Val Arg Met Leu Leu Asp Ser Arg Asp
 15 370 375 380
 Asn Asp His Phe Trp Glu Gln Gln Leu Asp Gly Leu Asp Trp Thr Ala
 385 390 395 400
 20 Gln Asp Ile Val Ala Phe Leu Ala Lys His Pro Glu Asp Val Gln Ser
 405 410 415
 Ser Asn Gly Ser Val Tyr Thr Trp Arg Glu Ala Phe Asn Glu Thr Asn
 420 425 430
 25 Gln Ala Ile Arg Thr Ile Ser Arg Phe Met Glu Cys Val Asn Leu Asn
 435 440 445
 Lys Leu Glu Pro Ile Ala Thr Glu Val Trp Leu Ile Asn Lys Ser Met
 30 450 455 460
 Glu Leu Leu Glu Tyr Ser Gly Val Thr Ser Ala His Cys Asn Leu Cys
 465 470 475 480
 35 Leu Leu Ser Ser Ser Asp Ser Arg Ala Ser Ala Ser Gln Val Ala Gly
 485 490 495
 Ile Thr Ala Pro Ala Thr Thr Pro Gly Ala Gly Ile Val Phe Thr Gly
 500 505 510
 40 Ile Thr Pro Gly Ser Ile Glu Leu Pro His His Val Lys Tyr Lys Ile
 515 520 525
 Arg Met Asp Ile Asp Asn Val Glu Arg Thr Asn Lys Ile Lys Asp Gly
 45 530 535 540
 Tyr Trp Asp Pro Gly Pro Arg Ala Asp Pro Phe Glu Asp Met Arg Tyr
 545 550 555 560
 50 Val Trp Gly Gly Phe Ala Tyr Leu Gln Asp Val Val Glu Gln Ala Ile
 565 570 575
 Ile Arg Val Leu Thr Gly Thr Glu Lys Lys Thr Gly Val Tyr Met Gln
 580 585 590
 55 Gln Met Pro Tyr Pro Cys Tyr Val Asp Asp Ile Phe Leu Arg Val Met
 595 600 605
 Ser Arg Ser Met Pro Leu Phe Met Thr Leu Ala Trp Ile Tyr Ser Val
 60 610 615 620
 Ala Val Ile Ile Lys Gly Ile Val Tyr Glu Lys Glu Ala Arg Leu Lys
 625 630 635 640
 65 Glu Thr Met Arg Ile Met Gly Leu Asp Asn Ser Ile Leu Trp Phe Ser
 645 650 655
 Trp Phe Ile Ser Ser Leu Ile Pro Leu Leu Val Ser Ala Gly Leu Leu

	660							665							670						
	Val	Val	Ile	Leu	Lys	Leu	Gly	Asn	Leu	Leu	Pro	Tyr	Ser	Asp	Pro	Ser					
	675							680							685						
5	Val	Val	Phe	Val	Phe	Leu	Ser	Val	Phe	Ala	Val	Val	Thr	Ile	Leu	Gln					
	690							695							700						
10	Cys	Phe	Leu	Ile	Ser	Thr	Leu	Phe	Ser	Arg	Ala	Asn	Leu	Ala	Ala	Ala					
	705							710							715						
	Cys	Gly	Gly	Ile	Ile	Tyr	Phe	Thr	Leu	Tyr	Leu	Pro	Tyr	Val	Leu	Cys					
	725							730							735						
15	Val	Ala	Trp	Gln	Asp	Tyr	Val	Gly	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Phe	Ala	Ser					
	740							745							750						
	Leu	Leu	Ser	Pro	Val	Ala	Phe	Gly	Phe	Gly	Cys	Glu	Tyr	Phe	Ala	Leu					
	755							760							765						
20	Phe	Glu	Glu	Gln	Gly	Ile	Gly	Val	Gln	Trp	Asp	Asn	Leu	Phe	Glu	Ser					
	770							775							780						
25	Pro	Val	Glu	Glu	Asp	Gly	Phe	Asn	Leu	Thr	Thr	Ser	Val	Ser	Met	Met					
	785							790							795						
	Leu	Phe	Asp	Thr	Phe	Leu	Tyr	Gly	Val	Met	Thr	Trp	Tyr	Ile	Glu	Ala					
	805							810							815						
30	Val	Phe	Pro	Gly	Gln	Tyr	Gly	Ile	Pro	Arg	Pro	Trp	Tyr	Phe	Pro	Cys					
	820							825							830						
	Thr	Lys	Ser	Tyr	Trp	Phe	Gly	Glu	Glu	Ser	Asp	Glu	Lys	Ser	His	Pro					
	835							840							845						
35	Gly	Ser	Asn	Gln	Lys	Arg	Ile	Ser	Glu	Ile	Cys	Met	Glu	Glu	Glu	Pro					
	850							855							860						
40	Thr	His	Leu	Lys	Leu	Gly	Val	Ser	Ile	Gln	Asn	Leu	Val	Lys	Val	Tyr					
	865							870							875						
	Arg	Asp	Gly	Met	Lys	Val	Ala	Val	Asp	Gly	Leu	Ala	Leu	Asn	Phe	Tyr					
	885							890							895						
45	Glu	Gly	Gln	Ile	Thr	Ser	Phe	Leu	Gly	His	Asn	Gly	Ala	Gly	Lys	Thr					
	900							905							910						
	Thr	Thr	Met	Ser	Ile	Leu	Thr	Gly	Leu	Phe	Pro	Pro	Thr	Ser	Gly	Thr					
	915							920							925						
50	Ala	Tyr	Ile	Leu	Gly	Lys	Asp	Ile	Arg	Ser	Glu	Met	Ser	Thr	Ile	Arg					
	930							935							940						
55	Gln	Asn	Leu	Gly	Val	Cys	Pro	Gln	His	Asn	Val	Leu	Phe	Asp	Met	Leu					
	945							950							955						
	Thr	Val	Glu	Glu	His	Ile	Trp	Phe	Tyr	Ala	Arg	Leu	Lys	Gly	Leu	Ser					
	965							970							975						
60	Glu	Lys	His	Val	Lys	Ala	Glu	Met	Glu	Gln	Met	Ala	Leu	Asp	Val	Gly					
	980							985							990						
	Leu	Pro	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Ser	Lys	Thr	Ser	Gln	Leu	Ser	Gly	Gly					
	995							1000							1005						
65	Met	Gln	Arg	Lys	Leu	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Phe	Val	Gly	Gly	Ser	Lys					
	1010							1015							1020						

Val Val Ile Leu Asp Glu Pro Thr Ala Gly Val Asp Pro Tyr Ser Arg
 1025 1030 1035 1040
 5 Arg Gly Ile Trp Glu Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Gln Gly Arg Thr Ile
 1045 1050 1055
 Ile Leu Ser Thr His His Met Asp Glu Ala Asp Val Leu Gly Asp Arg
 1060 1065 1070
 10 Ile Ala Ile Ile Ser His Gly Lys Leu Cys Cys Val Gly Ser Ser Leu
 1075 1080 1085
 Phe Leu Lys Asn Gln Leu Gly Thr Gly Tyr Tyr Leu Thr Leu Val Lys
 1090 1095 1100
 15 Lys Asp Val Glu Ser Ser Leu Ser Ser Cys Arg Asn Ser Ser Ser Thr
 1105 1110 1115 1120
 Val Ser Tyr Leu Lys Lys Glu Asp Ser Val Ser Gln Ser Ser Ser Asp
 1125 1130 1135
 Ala Gly Leu Gly Ser Asp His Glu Ser Asp Thr Leu Thr Ile Asp Val
 1140 1145 1150
 25 Ser Ala Ile Ser Asn Leu Ile Arg Lys His Val Ser Glu Ala Arg Leu
 1155 1160 1165
 Val Glu Asp Ile Gly His Glu Leu Thr Tyr Val Leu Pro Tyr Glu Ala
 1170 1175 1180
 30 Ala Lys Glu Gly Ala Phe Val Glu Leu Phe His Glu Ile Asp Asp Arg
 1185 1190 1195 1200
 Leu Ser Asp Leu Gly Ile Ser Ser Tyr Gly Ile Ser Glu Thr Thr Leu
 1205 1210 1215
 Glu Glu Ile Phe Leu Lys Val Ala Glu Glu Ser Gly Val Asp Ala Glu
 1220 1225 1230
 40 Thr Ser Asp Gly Thr Leu Pro Ala Arg Arg Asn Arg Arg Ala Phe Gly
 1235 1240 1245
 Asp Lys Gln Ser Cys Leu Arg Pro Phe Thr Glu Asp Asp Ala Ala Asp
 1250 1255 1260
 45 Pro Asn Asp Ser Asp Ile Asp Pro Glu Ser Arg Glu Thr Asp Leu Leu
 1265 1270 1275 1280
 Ser Gly Met Asp Gly Lys Gly Ser Tyr Gln Val Lys Gly Trp Lys Leu
 1285 1290 1295
 50 Thr Gln Gln Gln Phe Val Ala Leu Leu Trp Lys Arg Leu Leu Ile Ala
 1300 1305 1310
 Arg Arg Ser Arg Lys Gly Phe Phe Ala Gln Ile Val Leu Pro Ala Val
 1315 1320 1325
 Phe Val Cys Ile Ala Leu Val Phe Ser Leu Ile Val Pro Pro Phe Gly
 1330 1335 1340
 60 Lys Tyr Pro Ser Leu Glu Leu Gln Pro Trp Met Tyr Asn Glu Gln Tyr
 1345 1350 1355 1360
 Thr Phe Val Ser Asn Asp Ala Pro Glu Asp Thr Gly Thr Leu Glu Leu
 1365 1370 1375
 65 Leu Asn Ala Leu Thr Lys Asp Pro Gly Phe Gly Thr Arg Cys Met Glu
 1380 1385 1390

Gly Asn Pro Ile Pro Asp Thr Pro Cys Gln Ala Gly Glu Glu Glu Trp
 1395 1400 1405
 5 Thr Thr Ala Pro Val Pro Gln Thr Ile Met Asp Leu Phe Gln Asn Gly
 1410 1415 1420
 Asn Trp Thr Met Gln Asn Pro Ser Pro Ala Cys Gln Cys Ser Ser Asp
 1425 1430 1435 1440
 10 Lys Ile Lys Lys Met Leu Pro Val Cys Pro Pro Gly Ala Gly Gly Leu
 1445 1450 1455
 Pro Pro Pro Gln Arg Lys Gln Asn Thr Ala Asp Ile Leu Gln Asp Leu
 1460 1465 1470
 15 Thr Gly Arg Asn Ile Ser Asp Tyr Leu Val Lys Thr Tyr Val Gln Ile
 1475 1480 1485
 20 Ile Ala Lys Ser Leu Lys Asn Lys Ile Trp Val Asn Glu Phe Arg Tyr
 1490 1495 1500
 Gly Gly Phe Ser Leu Gly Val Ser Asn Thr Gln Ala Leu Pro Pro Ser
 1505 1510 1515 1520
 25 Gln Glu Val Asn Asp Ala Thr Lys Gln Met Lys Lys His Leu Lys Leu
 1525 1530 1535
 Ala Lys Asp Ser Ser Ala Asp Arg Phe Leu Asn Ser Leu Gly Arg Phe
 1540 1545 1550
 30 Met Thr Gly Leu Asp Thr Arg Asn Asn Val Lys Val Trp Phe Asn Asn
 1555 1560 1565
 35 Lys Gly Trp His Ala Ile Ser Ser Phe Leu Asn Val Ile Asn Asn Ala
 1570 1575 1580
 Ile Leu Arg Ala Asn Leu Gln Lys Gly Glu Asn Pro Ser His Tyr Gly
 1585 1590 1595 1600
 40 Ile Thr Ala Phe Asn His Pro Leu Asn Leu Thr Lys Gln Gln Leu Ser
 1605 1610 1615
 Glu Val Ala Pro Met Thr Thr Ser Val Asp Val Leu Val Ser Ile Cys
 1620 1625 1630
 45 Val Ile Phe Ala Met Ser Phe Val Pro Ala Ser Phe Val Val Phe Leu
 1635 1640 1645
 50 Ile Gln Glu Arg Val Ser Lys Ala Lys His Leu Gln Phe Ile Ser Gly
 1650 1655 1660
 Val Lys Pro Val Ile Tyr Trp Leu Ser Asn Phe Val Trp Asp Met Cys
 1665 1670 1675 1680
 55 Asn Tyr Val Val Pro Ala Thr Leu Val Ile Ile Ile Phe Ile Cys Phe
 1685 1690 1695
 Gln Gln Lys Ser Tyr Val Ser Ser Thr Asn Leu Pro Val Leu Ala Leu
 1700 1705 1710
 60 Leu Leu Leu Leu Tyr Gly Trp Ser Ile Thr Pro Leu Met Tyr Pro Ala
 1715 1720 1725
 65 Ser Phe Val Phe Lys Ile Pro Ser Thr Ala Tyr Val Val Leu Thr Ser
 1730 1735 1740
 Val Asn Leu Phe Ile Gly Ile Asn Gly Ser Val Ala Thr Phe Val Leu

	1745	1750	1755	1760
	Glu Leu Phe Thr Asp Asn Lys Leu Asn Asn Ile Asn Asp Ile Leu Lys			
		1765	1770	1775
5	Ser Val Phe Leu Ile Phe Pro His Phe Cys Leu Gly Arg Gly Leu Ile			
		1780	1785	1790
10	Asp Met Val Lys Asn Gln Ala Met Ala Asp Ala Leu Glu Arg Phe Gly			
		1795	1800	1805
	Glu Asn Arg Phe Val Ser Pro Leu Ser Trp Asp Leu Val Gly Arg Asn			
		1810	1815	1820
15	Leu Phe Ala Met Ala Val Glu Gly Val Val Phe Phe Leu Ile Thr Val			
		1825	1830	1835
	Leu Ile Gln Tyr Arg Phe Phe Ile Arg Pro Arg Pro Val Asn Ala Lys			
		1845	1850	1855
20	Leu Ser Pro Leu Asn Asp Glu Asp Glu Asp Val Arg Arg Glu Arg Gln			
		1860	1865	1870
	Arg Ile Leu Asp Gly Gly Gly Gln Asn Asp Ile Leu Glu Ile Lys Glu			
25		1875	1880	1885
	Leu Thr Lys Ile Tyr Arg Arg Lys Arg Lys Pro Ala Val Asp Arg Ile			
		1890	1895	1900
30	Cys Val Gly Ile Pro Pro Gly Glu Cys Phe Gly Leu Leu Gly Val Asn			
		1905	1910	1915
	Gly Ala Gly Lys Ser Ser Thr Phe Lys Met Leu Thr Gly Asp Thr Thr			
		1925	1930	1935
35	Val Thr Arg Gly Asp Ala Phe Leu Asn Arg Asn Ser Ile Leu Ser Asn			
		1940	1945	1950
	Ile His Glu Val His Gln Asn Met Gly Tyr Cys Pro Gln Phe Asp Ala			
40		1955	1960	1965
	Ile Thr Glu Leu Leu Thr Gly Arg Glu His Val Glu Phe Phe Ala Leu			
		1970	1975	1980
45	Leu Arg Gly Val Pro Glu Lys Glu Val Gly Lys Val Gly Glu Trp Ala			
		1985	1990	1995
	Ile Arg Lys Leu Gly Leu Val Lys Tyr Gly Glu Lys Tyr Ala Gly Asn			
		2005	2010	2015
50	Tyr Ser Gly Gly Asn Lys Arg Lys Leu Ser Thr Ala Met Ala Leu Ile			
		2020	2025	2030
	Gly Gly Pro Pro Val Val Phe Leu Asp Glu Pro Thr Thr Gly Met Asp			
55		2035	2040	2045
	Pro Lys Ala Arg Arg Phe Leu Trp Asn Cys Ala Leu Ser Val Val Lys			
		2050	2055	2060
60	Glu Gly Arg Ser Val Val Leu Thr Ser His Ser Met Glu Glu Cys Glu			
		2065	2070	2075
	Ala Leu Cys Thr Arg Met Ala Ile Met Val Asn Gly Arg Phe Arg Cys			
		2085	2090	2095
65	Leu Gly Ser Val Gln His Leu Lys Asn Arg Phe Gly Asp Gly Tyr Thr			
		2100	2105	2110

Ile Val Val Arg Ile Ala Gly Ser Asn Pro Asp Leu Lys Pro Val Gln
 2115 2120 2125
 5 Asp Phe Phe Gly Leu Ala Phe Pro Gly Ser Val Pro Lys Glu Lys His
 2130 2135 2140
 Arg Asn Met Leu Gln Tyr Gln Leu Pro Ser Ser Leu Ser Ser Leu Ala
 2145 2150 2155 2160
 10 Arg Ile Phe Ser Ile Leu Ser Gln Ser Lys Lys Arg Leu His Ile Glu
 2165 2170 2175
 Asp Tyr Ser Val Ser Gln Thr Thr Leu Asp Gln Val Phe Val Asn Phe
 2180 2185 2190
 15 Ala Lys Asp Gln Ser Asp Asp Asp His Leu Lys Asp Leu Ser Leu His
 2195 2200 2205
 Lys Asn Gln Thr Val Val Asp Val Ala Val Leu Thr Ser Phe Leu Gln
 2210 2215 2220
 Asp Glu Lys Val Lys Glu Ser Tyr Val
 2225 2230
 25
 <210> 141
 <211> 574
 <212> PRT
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 141
 Met Pro Ser Ala Gly Thr Leu Pro Trp Val Gln Gly Ile Ile Cys Asn
 1 5 10 15
 35 Ala Asn Asn Pro Cys Phe Arg Tyr Pro Thr Pro Gly Glu Ala Pro Gly
 20 25 30
 Val Val Gly Asn Phe Asn Lys Ser Ile Val Ala Arg Leu Phe Ser Asp
 35 40 45
 Ala Arg Arg Leu Leu Leu Tyr Ser Gln Lys Asp Thr Ser Met Lys Asp
 50 55 60
 45 Met Arg Lys Val Leu Arg Thr Leu Gln Gln Ile Lys Lys Ser Ser Ser
 65 70 75 80
 Asn Leu Lys Leu Gln Asp Phe Leu Val Asp Asn Glu Thr Phe Ser Gly
 85 90 95
 50 Phe Leu Tyr His Asn Leu Ser Leu Pro Lys Ser Thr Val Asp Lys Met
 100 105 110
 Leu Arg Ala Asp Val Ile Leu His Lys Val Phe Leu Gln Gly Tyr Gln
 115 120 125
 55 Leu His Leu Thr Ser Leu Cys Asn Gly Ser Lys Ser Glu Glu Met Ile
 130 135 140
 60 Gln Leu Gly Asp Gln Glu Val Ser Glu Leu Cys Gly Leu Pro Arg Glu
 145 150 155 160
 Lys Leu Ala Ala Ala Glu Arg Val Leu Arg Ser Asn Met Asp Ile Leu
 165 170 175
 65 Lys Pro Ile Leu Arg Thr Leu Asn Ser Thr Ser Pro Phe Pro Ser Lys
 180 185 190

Glu Leu Ala Glu Ala Thr Lys Thr Leu Leu His Ser Leu Gly Thr Leu
 195 200 205
 5 Ala Gln Glu Leu Phe Ser Met Arg Ser Trp Ser Asp Met Arg Gln Glu
 210 215 220
 Val Met Phe Leu Thr Asn Val Asn Ser Ser Ser Ser Ser Thr Gln Ile
 225 230 235 240
 10 Tyr Gln Ala Val Ser Arg Ile Val Cys Gly His Pro Glu Gly Gly Gly
 245 250 255
 Leu Lys Ile Lys Ser Leu Asn Trp Tyr Glu Asp Asn Asn Tyr Lys Ala
 260 265 270
 15 Leu Phe Gly Gly Asn Gly Thr Glu Glu Asp Ala Glu Thr Phe Tyr Asp
 275 280 285
 Asn Ser Thr Thr Pro Tyr Cys Asn Asp Leu Met Lys Asn Leu Glu Ser
 290 295 300
 Ser Pro Leu Ser Arg Ile Ile Trp Lys Ala Leu Lys Pro Leu Leu Val
 305 310 315 320
 25 Gly Lys Ile Leu Tyr Thr Pro Asp Thr Pro Ala Thr Arg Gln Val Met
 325 330 335
 Ala Glu Val Asn Lys Thr Phe Gln Glu Leu Ala Val Phe His Asp Leu
 340 345 350
 30 Glu Gly Met Trp Glu Glu Leu Ser Pro Lys Ile Trp Thr Phe Met Glu
 355 360 365
 Asn Ser Gln Glu Met Asp Leu Val Arg Met Leu Leu Asp Ser Arg Asp
 370 375 380
 Asn Asp His Phe Trp Glu Gln Gln Leu Asp Gly Leu Asp Trp Thr Ala
 385 390 395 400
 40 Gln Asp Ile Val Ala Phe Leu Ala Lys His Pro Glu Asp Val Gln Ser
 405 410 415
 Ser Asn Gly Ser Val Tyr Thr Trp Arg Glu Ala Phe Asn Glu Thr Asn
 420 425 430
 45 Gln Ala Ile Arg Thr Ile Ser Arg Phe Met Glu Cys Val Asn Leu Asn
 435 440 445
 Lys Leu Glu Pro Ile Ala Thr Glu Val Trp Leu Ile Asn Lys Ser Met
 450 455 460
 Glu Leu Leu Asp Glu Arg Lys Phe Trp Ala Gly Ile Val Phe Thr Gly
 465 470 475 480
 55 Ile Thr Pro Gly Ser Ile Glu Leu Pro His His Val Lys Tyr Lys Ile
 485 490 495
 Arg Met Asp Ile Asp Asn Val Glu Arg Thr Asn Lys Ile Lys Asp Gly
 500 505 510
 60 Tyr Trp Asp Pro Gly Pro Arg Ala Asp Pro Phe Glu Asp Met Arg Tyr
 515 520 525
 Val Trp Gly Gly Phe Ala Tyr Leu Gln Asp Val Val Glu Gln Ala Ile
 530 535 540
 65 Ile Arg Val Leu Arg Ala Pro Arg Arg Lys Leu Val Ser Ile Cys Asn
 545 550 555 560

Arg Cys Pro Ile Pro Val Thr Leu Met Thr Ser Phe Cys Gly
565 570

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/01595

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/52 C07K14/705 C12Q1/68 C07K16/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

STRAND, EPO-Internal, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>LANGMANN T, KLUCKEN J, REIL M, LIEBISCH G, LUCIANI MF, CHIMINI G, KAMINSKI WE, SCHMITZ G: "Molecular cloning of the human ATP-binding cassette transporter 1 (hABC1): evidence for sterol-dependent regulation in macrophages" BIOCHEM BIOPHYS RES COMMUN, vol. 257, no. 1, 2 April 1999 (1999-04-02), pages 29-33, XP000877240 cited in the application the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	2-5,14, 22-31

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☐ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 October 2000

Date of mailing of the international search report

23.11.00

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3015

Authorized officer

CHAMBONNET, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 00/01595

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>EMBASE : AC AQ061641; Cr��e le 03-AUG-1998 (Rel. 56, Created) Caractérisation de la séquence : "CIT-HSP-2348011.TF CIT-HSP Homo sapiens genomic clone 2348011, Genomic survey sequence.Homo sapiens (human)" XP002132840 the whole document</p> <p>---</p>	1-5
A	<p>RUST, S. ET AL.: "Assignment of Tangier disease to chromosome 9q31 by a graphical linkage exclusion strategy." NAT GENET., vol. 20, no. 1, September 1998 (1998-09), pages 96-98, XP000884511 cited in the application the whole document</p> <p>---</p>	1
A	<p>LUCIANI M F ET AL: "CLONING OF TWO NOVEL ABC TRANSPORTERS MAPPING ON HUMAN CHROMOSOME 9" GENOMICS,US,ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, vol. 21, no. 1, 1 May 1994 (1994-05-01), pages 150-159, XP000869719 ISSN: 0888-7543 cited in the application the whole document</p> <p>---</p>	1
A	<p>LISCUM L, MUNN NJ.: "Intracellular cholesterol transport." BIOCHIM BIOPHYS ACTA., vol. 1438, no. 1, 19 April 1999 (1999-04-19), pages 19-37, XP000889761 page 33, column 1, paragraph 5.2 -column 2</p> <p>---</p>	1
P,X	<p>GURA, T.: "Gene linked to faulty cholesterol transport." SCIENCE., vol. 285, no. 5429, 6 August 1999 (1999-08-06), pages 814-815, XP000877245 the whole document</p> <p>---</p>	1
P,X	<p>RUST S, ROSIER M, FUNKE H, REAL J, AMOURA Z, PIETTE JC, DELEUZE JF, BREWER HB, DUVERGER N, DENEFFLE P, ASSMANN G.: "Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1." NAT GENET., vol. 22, no. 4, August 1999 (1999-08), pages 352-355, XP000884993 the whole document</p> <p>---</p>	1-5

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/01595

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	REMALEY AT, ET AL.: "Human ATP-binding cassette transporter 1 (ABC1): genomic organization and identification of the genetic defect in the original Tangier disease kindred." PROC NATL ACAD SCI U S A., vol. 96, no. 22, 26 October 1999 (1999-10-26), pages 12685-12690, XP000877247 the whole document ---	1-5
P,X	LAWN RM, WADE DP, GARVIN MR, WANG X, SCHWARTZ K, PORTER JG, SEILHAMER JJ, VAUGHAN AM, ORAM JF.: "The Tangier disease gene product ABC1 controls the cellular apolipoprotein-mediated lipid removal pathway." J CLIN INVEST., vol. 104, no. 8, October 1999 (1999-10), pages R25-R31, XP000884782 the whole document ---	1-5
P,X	BODZIOCH, M. ET AL.: "The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease." NAT GENET., vol. 22, no. 4, August 1999 (1999-08), pages 347-351, XP000889766 the whole document ---	1
P,X	MARCIL M, ET AL.: "Mutations in the ABC1 gene in familial HDL deficiency with defective cholesterol efflux." LANCET, vol. 354, no. 9187, 16 October 1999 (1999-10-16), pages 1341-1346, XP000877242 the whole document ---	1
P,X	ORSO, E. ET AL.: "Transport of lipids from golgi to plasma membrane is defective in Tangier disease patients and Abcl-deficient mice." NAT GENET. 2000 FEB;24(2):192-6., XP000889762 the whole document ---	1
P,X	BROOKS-WILSON A, ET AL.: "Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency." NAT GENET., vol. 22, no. 4, August 1999 (1999-08), pages 336-345, XP000889767 the whole document -----	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No
PCT/FR 00/01595

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 C12N15/52 C07K14/705 C12Q1/68 C07K16/18		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 C07K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) STRAND, EPO-Internal, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	LANGMANN T, KLUCKEN J, REIL M, LIEBISCH G, LUCIANI MF, CHIMINI G, KAMINSKI WE, SCHMITZ G: "Molecular cloning of the human ATP-binding cassette transporter 1 (hABC1): evidence for sterol-dependent regulation in macrophages" BIOCHEM BIOPHYS RES COMMUN, vol. 257, no. 1, 2 avril 1999 (1999-04-02), pages 29-33, XP000877240 cité dans la demande le document en entier <div style="text-align: center;">---</div> <div style="text-align: center;">-/--</div>	2-5,14, 22-31
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </div>		
<div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>* Catégories spéciales de documents cités:</p> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>"&" document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
13 octobre 2000		23.11.00
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé CHAMBONNET, F

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EMBASE : AC AQ061641; Créée le 03-AUG-1998 (Rel. 56, Created) Caractérisation de la séquence : "CIT-HSP-2348011.TF CIT-HSP Homo sapiens genomic clone 2348011, Genomic survey sequence.Homo sapiens (human)" XP002132840 le document en entier ---	1-5
A	RUST, S. ET AL.: "Assignment of Tangier disease to chromosome 9q31 by a graphical linkage exclusion strategy." NAT GENET., vol. 20, no. 1, septembre 1998 (1998-09), pages 96-98, XP000884511 cité dans la demande le document en entier ---	1
A	LUCIANI M F ET AL: "CLONING OF TWO NOVEL ABC TRANSPORTERS MAPPING ON HUMAN CHROMOSOME 9" GENOMICS,US,ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, vol. 21, no. 1, 1 mai 1994 (1994-05-01), pages 150-159, XP000869719 ISSN: 0888-7543 cité dans la demande le document en entier ---	1
A	LISCUM L, MUNN NJ.: "Intracellular cholesterol transport." BIOCHIM BIOPHYS ACTA., vol. 1438, no. 1, 19 avril 1999 (1999-04-19), pages 19-37, XP000889761 page 33, colonne 1, alinéa 5.2 -colonne 2 ---	1
P,X	GURA, T.: "Gene linked to faulty cholesterol transport." SCIENCE., vol. 285, no. 5429, 6 août 1999 (1999-08-06), pages 814-815, XP000877245 le document en entier ---	1
P,X	RUST S, ROSIER M, FUNKE H, REAL J, AMOURA Z, PIETTE JC, DELEUZE JF, BREWER HB, DUVERGER N, DENEFLÉ P, ASSMANN G.: "Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1." NAT GENET., vol. 22, no. 4, août 1999 (1999-08), pages 352-355, XP000884993 le document en entier ---	1-5

-/--

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
P,X	REMALEY AT, ET AL.: "Human ATP-binding cassette transporter 1 (ABCI): genomic organization and identification of the genetic defect in the original Tangier disease kindred." PROC NATL ACAD SCI U S A., vol. 96, no. 22, 26 octobre 1999 (1999-10-26), pages 12685-12690, XP000877247 le document en entier ---	1-5
P,X	LAWN RM, WADE DP, GARVIN MR, WANG X, SCHWARTZ K, PORTER JG, SEILHAMER JJ, VAUGHAN AM, ORAM JF.: "The Tangier disease gene product ABC1 controls the cellular apolipoprotein-mediated lipid removal pathway." J CLIN INVEST., vol. 104, no. 8, octobre 1999 (1999-10), pages R25-R31, XP000884782 le document en entier ---	1-5
P,X	BODZIOCH, M. ET AL.: "The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease." NAT GENET., vol. 22, no. 4, août 1999 (1999-08), pages 347-351, XP000889766 le document en entier ---	1
P,X	MARCIL M, ET AL.: "Mutations in the ABC1 gene in familial HDL deficiency with defective cholesterol efflux." LANCET, vol. 354, no. 9187, 16 octobre 1999 (1999-10-16), pages 1341-1346, XP000877242 le document en entier ---	1
P,X	ORSO, E. ET AL.: "Transport of lipids from golgi to plasma membrane is defective in Tangier disease patients and Abcl-deficient mice." NAT GENET. 2000 FEB;24(2):192-6., XP000889762 le document en entier ---	1
P,X	BROOKS-WILSON A, ET AL.: "Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency." NAT GENET, vol. 22, no. 4, août 1999 (1999-08), pages 336-345, XP000889767 le document en entier -----	1

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}
4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os} revendications : 1-5, 14-15, 22-34, 41-45 toutes partiellement

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUIITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 1, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide de séquence SEQ ID NO 15, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un fragment SEQ ID NO 48, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucleotide de séquence nucléotidique SEQ ID No 48, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucleotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

2. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 2, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 16-21, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 49-54, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucleotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 49-54, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucleotides; sonde ou amorce nucléotidiquespécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

3. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 3, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

comprenant un polynucleotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 22, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un fragment SEQ ID NO 55, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucleotide de séquence nucléotidique SEQ ID No 55, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucleotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

4. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 4, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide de séquence SEQ ID NO 23, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 56 et 57, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 56 et 57, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucleotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

5. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 5, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 24-30, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 58-65, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucleotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 58-65, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

6. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 6, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 31-34, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 66-70, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 66-70, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

7. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 7, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 35-38, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 71-75, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 71-75, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

composition pharmaceutique;

8. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 8, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide de séquence SEQ ID NO 39, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 76 et 77, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 76 et 77, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

9. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 9, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide de séquence SEQ ID NO 40, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 71-75, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 71-75, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

10. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 10, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

ID NO 41 à 42, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 80-82, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 81-82, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

11. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 11, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 43 et 44, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 83 et 84, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 83 et 84, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

12. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 12, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide de séquence SEQ ID NO 45, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 86 et 87, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 86 et 87, et les acides nucléiques

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

13. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 13, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide de séquence SEQ ID NO 46, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucleotide choisi parmi les séquences SEQ ID NO 88 et 89, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi parmi les séquences nucléotidiques SEQ ID No 88 et 89, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

14. revendications: 1-5, 14-15, 22-34, 41-45, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 245 nucléotides consécutifs d'une séquence nucléotidique SEQ ID No 14, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant un polynucleotide de séquence SEQ ID NO 47, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un fragment SEQ ID NO 90, ou un acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide de séquence nucléotidique SEQ ID No 90, et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique;

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

15. revendications: 6-9 et partiellement 14-15, 22-34, 41-45 50-51

Acide nucléique comprenant polynucléotide de séquence SEQ ID NO 91 ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique comprenant au moins huit nucléotides consécutifs d'un polynucléotide de séquence nucléotidique SEQ ID No 92, un fragment biologiquement actif de celui-ci ou un acide nucléique de séquence complémentaire, ou un homologue de celui-ci; sonde ou amorce nucléotidique et les acides nucléiques de séquence complémentaire à ces polynucléotides; sonde ou amorce nucléotidique spécifique du gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi de tels acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; utilisation desdits acide nucléique ou vecteur pour la fabrication de composition pharmaceutique; utilisation de ladite cellule pour cribler des principes actifs pour la prévention ou le traitement de maladies résultant d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol;

16. revendications: 35 et partiellement 10-12, 16-17, 22 -34, 37-40

Acide nucléique ayant au moins huit nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93-94 ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 93-94, ou un acide nucléique de séquence complémentaire; sonde ou amorce nucléotidique pour la détection d'une mutation dans le gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi ces acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; polypeptide ABC1 muté, caractérisé en ce qu'il comprend un polypeptide de séquence d'acides aminés SEQ ID No 140; anticorps dirigé contre ce polypeptide ainsi que les procédé de détection l'utilisant et nécessaire le comprenant;

17. revendications: 36 et partiellement 10-12, 16-17, 22 -34, 37-40

Acide nucléique ayant au moins huit nucléotides consécutifs d'un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 95-96 ou un acide nucléique de séquence complémentaire; acide nucléique ayant au moins 80% d'identité en nucléotides ou hybridant dans des conditions de forte stringence avec un polynucléotide choisi dans le groupe constitué des séquences nucléotidiques SEQ ID NO 95-98, ou un acide nucléique de séquence complémentaire;

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

sonde ou amorce nucléotidique pour la détection d'une mutation dans le gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi ces acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique; polypeptide ABC1 muté, caractérisé en ce qu'il comprend un polypeptide de séquence d'acides aminés SEQ ID No 141; anticorps dirigé contre ce polypeptide ainsi que les procédé de détection l'utilisant et nécessaire le comprenant;

18. revendications: 10-15, 18-34, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 97 ou 98 et comprenant la base polymorphe ou un acide nucléique de séquence complémentaire; sonde ou amorce nucléotidique pour la détection d'un polymorphisme, dans le gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi ces acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique;

19. revendications: 10-15, 18-34, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 99 ou 100 et comprenant la base polymorphe ou un acide nucléique de séquence complémentaire; sonde ou amorce nucléotidique pour la détection d'un polymorphisme dans le gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi ces acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique;

20. revendications: 10-15, 18-34, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 101 ou 102 et comprenant la base polymorphe ou un acide nucléique de séquence complémentaire; sonde ou amorce nucléotidique pour la détection d'un polymorphisme dans le gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi ces acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique;

21. revendications: 10-15, 18-34, toutes partiellement

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 1037 ou 104 et comprenant la base polymorphe ou un acide nucléique de séquence complémentaire; sonde ou amorce nucléotidique pour la détection d'un polymorphisme dans le gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi ces acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique;

22. revendications: 10-15, 18-34, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 105 ou 106 et comprenant la base polymorphe ou un acide nucléique de séquence complémentaire; sonde ou amorce nucléotidique pour la détection d'un polymorphisme dans le gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi ces acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique;

23. revendications: 10-15, 18-34, toutes partiellement

Acide nucléique comprenant au moins 8 nucléotides consécutifs d'un polynucléotide de séquence SEQ ID NO 107 ou 108 et comprenant la base polymorphe ou un acide nucléique de séquence complémentaire; sonde ou amorce nucléotidique pour la détection d'un polymorphisme dans le gène ABC1 d'une longueur d'au moins 15 nucléotides choisie parmi ces acides nucléiques ainsi que les procédés d'amplification et de détection les utilisant et leurs nécessaires de mise en oeuvre; vecteur et cellule hôte recombinants comprenant un tel acide nucléique;

24. revendications: 46,47

Utilisation du polypeptide ABC1 ou de cellules exprimant ce polypeptide pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention de l'athérosclérose et composition pharmaceutique dérivée;

25. revendications: 48-49 et partiellement 50-51

Utilisation du polypeptide ABC1 ou de cellules exprimant le polypeptide ABC1 pour cribler des principes actifs pour la prévention ou le traitement de maladies résultant d'un dysfonctionnement du transport inverse du cholestérol, pour

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

autant que non couvert par le sujet 15.